



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR, EMBRIOLOGIA E
GENÉTICA
LABORATÓRIO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS

**IMPLEMENTAÇÃO DE MARCADORES MINISTRIS PARA
OBTENÇÃO DE FREQUÊNCIAS ALÉLICAS NA POPULAÇÃO
DE SANTA CATARINA**

EMILY BRUNA JUSTINO

Orientadora: Dra. Andrea Rita Marrero
Co-orientadora: MSc. Sandra Regina Rachadel Torres

FLORIANÓPOLIS
2012



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR, EMBRIOLOGIA E
GENÉTICA
LABORATÓRIO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS

**IMPLEMENTAÇÃO DE MARCADORES MINISTRIS PARA
OBTENÇÃO DE FREQUÊNCIAS ALÉLICAS NA POPULAÇÃO
DE SANTA CATARINA**

EMILY BRUNA JUSTINO

Trabalho de conclusão do Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina, apresentado como requisito para o cumprimento da disciplina Trabalho de conclusão do curso II (BIO 7016).

Orientadora: Dra. Andrea R. Marrero
Co-orientadora: MSc. Sandra R.R. Torres

FLORIANÓPOLIS
2012

Emily Bruna Justino

**IMPLEMENTAÇÃO DE MARCADORES MINISTRIS PARA
OBTENÇÃO DE FREQUÊNCIAS ALÉLICAS NA POPULAÇÃO
DE SANTA CATARINA**

Este Trabalho de Conclusão de Curso
foi julgado adequado para obtenção do
Título de “Bacharel em Ciências
Biológicas” e aprovado em sua forma
final com nota de 9,5 pelo Curso de
Ciências Biológicas.

Orientadora: Dra. Andrea Rita Marrero

Co-orientadora: MSc. Sandra Regina Rachadel Torres

Florianópolis, Julho de 2012.

JUSTINO, E. B.

Implementação de Marcadores miniSTRs para obtenção de Frequências Alélicas na População de Santa Catarina. Florianópolis, SC, 2012.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas)

59p.

1. MiniSTRs; 2. *D4S2364*; 3. *D2S441*; 4. *DIS1677*; 5. Genética Forense.

Emily Bruna Justino

**IMPLEMENTAÇÃO DE MARCADORES MINISTRIS PARA
OBTENÇÃO DE FREQUÊNCIAS ALÉLICAS NA POPULAÇÃO
DE SANTA CATARINA**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Bacharel em Ciências Biológicas” e aprovado em sua forma final pelo Curso de Ciências Biológicas.

Nota final: 9,5.

Florianópolis, 26 de Junho de 2012

Prof.^a Maria Risoleta Freire Marques
Coordenadora do Curso de Ciências Biológicas

Banca Examinadora:

Dra. Andrea Rita Marrero, Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

MSc. Sandra Regina Rachadel Torres, Co-orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a, Dr.^a Ilíada Rainha de Souza,
Universidade Federal de Santa Catarina

Dr. Marcelo Malaghini,
Instituto de Criminalística do Paraná

MSc. Clineu Julien Sexi Uehara,
Instituto Geral de Perícias de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado a Deus e aos
meus queridos pais.

AGRADECIMENTOS

- ✓ A Dra. Andrea Rita Marrero por me orientar não somente no presente trabalho, mas também na vida profissional, e pelos conselhos que levarei para toda a vida;
- ✓ À MSc. Sandra Regina Rachadel Torres, perita do Instituto Geral de Perícias, por me aceitar de braços abertos no IGP e por me coorientar nesses dois anos;
- ✓ Ao LAPOGE - Laboratório de Polimorfismos Genéticos da Universidade Federal de Santa Catarina, por me aceitarem nessa etapa da minha vida;
- ✓ À Secretaria de Segurança Pública de Santa Catarina - Instituto Geral de Perícias de Santa Catarina por fornecerem subsídios para esta pesquisa;
- ✓ À Dra. Ilíada Rainha de Souza, por acreditar em mim, pelos ensinamentos e pela orientação durante três anos;
- ✓ À Dra. Yara Costa Netto Muniz por ler e reler meu trabalho, sempre pronta a me dar conselhos e dicas;
- ✓ Ao perito Dr. Marcelo Malaghini do Laboratório de Genética Molecular Forense do Instituto de Criminalística da Polícia Científica do Paraná pelos reagentes e protocolos;
- ✓ A todos que participaram das coletas de material biológico e extração de DNA utilizado nestas análises;
- ✓ Aos membros da banca (Dra. Ilíada Rainha de Souza, Dr. Marcelo Malaghini e MSc. Clineu Julien Seki Uehara) que se dispuseram a avaliar e contribuir com sugestões para este trabalho;

- ✓ A todos os peritos em Análises Forenses do IGP-SC por todo o apoio, em especial aos peritos Odilon, Tânia, Clineu, Alessandra e a técnica Andrea;
- ✓ Às Agências de fomento PNPd, CAPES, CNPq, FAPESC e UFSC;
- ✓ Às pessoas que fazem parte desta amostra.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

- ✓ Agradeço a Deus, meu maior e melhor amigo, por estar presente em todos os dias da minha vida, por iluminar meus caminhos e me dar força para levar essa caminhada em frente;
- ✓ Aos meus pais, Ediles e Marcos, por me ensinarem princípios e valores inestimáveis, pelo incentivo a cada dia, pelo maravilhoso exemplo de vida que passaram para mim e pelo amor incondicional;
- ✓ A minha irmã Evelyn, minha melhor amiga;
- ✓ Ao meu amor, Charles, pelo carinho e compreensão e pelo amor que nunca deixou faltar em qualquer momento;
- ✓ Aos meus familiares pelo carinho da vida toda;
- ✓ A minha querida amiga Bruna Viviane Vaz que iniciou comigo a graduação, o estágio no LAPOGE, no IGP e o TCC, muito obrigada por estar comigo em todos os dias desde o início da graduação;
- ✓ As minhas queridas amigas de graduação, Tatiana David, Thais Vianna, Natália Cury e Francis Dias por alegrarem meus dias;
- ✓ Aos meus amigos de graduação Juliano Lopes e Gabriel Stedille por me fazerem rir das coisas simples da vida;
- ✓ A toda equipe do Laboratório de Polimorfismos Genéticos da UFSC pelo companheirismo e amizade;
- ✓ Aos meus amigos da ADFloripa por todo apoio e por alegrarem meus finais de semana.

A todos que de alguma forma contribuíram para que esse trabalho fosse realizado, **MUITO OBRIGADA!**

“Tudo posso n’Aquele
que me fortalece.”

Paulo de Tarso, I d.C.

RESUMO

A utilização de STRs (Short Tandem Repeat) é uma ferramenta usual na comunidade forense. No entanto, quando se trabalha com amostras degradadas, a amplificação de STRs nem sempre é possível devido à fragmentação do DNA. Nos últimos anos foram relatados alguns métodos bem sucedidos para análises de amostras degradadas por meio de produtos de pequena dimensão de PCR, dentre eles os miniSTRs, que são iniciadores localizados o mais próximo possível da região polimórfica repetitiva de interesse, diminuindo assim o tamanho do produto a ser amplificado. Além de sua utilização nas práticas forenses, os miniSTRs também podem ser utilizados em estudos populacionais. O presente estudo caracteriza a variabilidade genética da população do Estado de Santa Catarina com base na análise de três loci autossômicos miniSTRs, conhecidos como NC02 (Non Codis 02) visando avaliar a estruturação da população catarinense, dado o grau de contribuição dos grupos considerados ancestrais (ameríndios, europeus e africanos) com o objetivo de avaliar a aplicabilidade desses marcadores em genética forense. Uma amostra de 180 catarinenses, sem relação de parentesco entre si, doadores do HEMOSC foram genotipados para os loci D4S2364, D2S441 e D1S1677 (miniplex NC02). As amostras são provenientes de seis mesorregiões do estado (Capital, Sul, Planalto, Oeste, Norte e Vale) foram amplificadas através da técnica de reação em cadeia da polimerase e os produtos de amplificação foram posteriormente determinados por intermédio de separação em eletroforese capilar. As frequências alélicas, heterozigosidade observada e esperada, os valores de FST e a Análise Molecular de Variância foram calculados com o auxílio de programas adequados. Não foram detectados desvios significativos para o equilíbrio de Hardy-Weinberg para os marcadores D4S2364 e D2S441. O alelo mais frequente de todos os loci estudados foi o D4S2364*9, com uma frequência de 0,564 para a população total de Santa Catarina. Os alelos menos frequentes foram o D4S2364*13 e o D2S441*12,3, com uma frequência de 0,003 e 0,016, respectivamente. O número de alelos por locus variou de 4

(D4S2364) a 8 (D2S2441 e D1S1677) e a heterozigosidade variou de 0,588 (D4S2364) para 0,782 (D1S1677). O Oeste catarinense apresentou 2 alelos exclusivos: D2S441*12.3 e D4S2364*11, que foi previamente descrito em outras populações utilizadas para comparação. Os três loci mostraram heterozigosidades maiores do que 0,588. Os valores de FST e AMOVA indicam pouca ou nenhuma diferenciação genética (FST 0 – 0,05). As frequências alélicas obtidas foram comparadas às existentes em outros estados brasileiros, sendo encontrada uma importante semelhança genética entre brasileiros, em relação a estes marcadores. Pelos resultados obtidos, podemos afirmar que não houve diferenças genotípicas estatisticamente significativas entre as mesorregiões do Estado de Santa Catarina. Os resultados obtidos neste trabalho corroboram a eficácia do miniplex NC02 para a identificação humana, tal como aqueles obtidos por outros autores e previamente publicados.

Palavras-chave: miniSTRs, *D4S2364*, *D2S441*, *D1S1677*, Genética Forense.

ABSTRACT

The use of STRs (Short Tandem Repeat) is a usual tool in the forensic community. However, when working with degraded samples, amplification of STRs is not always possible due to fragmentation of DNA. In recent years have been reported several successful methods for analysis of samples degraded by small products of PCR, including the miniSTRs, which primers are located as close as possible to repeat polymorphic region of interest, thereby reducing the size of the product to be amplified. Besides their use in forensic practice, the miniSTRs can also be used in population studies. This study characterizes the genetic variability of the population of the State of Santa Catarina -based analysis of three autosomal loci miniSTRs known as NC02 (Non Codis 02) to evaluate the structure of the population of Santa Catarina, given the degree of contribution of the groups considered ancestors (Amerindians, Europeans and Africans) in order to evaluate the applicability of these markers in forensic genetics. A sample of 180 in Santa Catarina, unrelated to each other, donors were genotyped for the HEMOSC loci D4S2364, D2S441 and D1S1677 (NC02 miniplex). Samples are from six meso state (Capital, South Plateau, West, North and Vale) were amplified using the technique of polymerase chain reaction and amplification products were subsequently measured by means of capillary electrophoresis separation. Allele frequencies, observed and expected heterozygosity values for FST and Molecular Analysis of variance was calculated with the aid of suitable programs. No significant deviations were detected for the Hardy-Weinberg equilibrium for D4S2364, D2S441 loci. The most frequent allele for all loci was the *9 allele for the locus D4S2364 with a frequency of 0.564 for the total population of Santa Catarina. The less frequent alleles were *13 (D4S2364) and *12.3 (D2S441) with a frequency of 0.003 and 0.016 respectively. The number of alleles of loci ranged from 4 (D4S2364) to 8 (D2S2441 and D1S1677) and ranged from 0.588 heterozygosity (D4S2364) to 0.782 (D1S1677). The West of Santa Catarina had two alleles: *3.12 for the marker D2S441 and D4S2364

*11 to that previously described in other populations used for comparison. The three loci shown heterozygosity greater than 0.588. The values of F_{ST} and AMOVA suggest little or no genetic differentiation (F_{ST} from 0 to 0.05). The allele frequencies were compared to those existing in other states, found a significant genetic similarity between Brazilian, in relation to these markers. Analyzing the results obtained, it can be inferred that there was insufficient time for the meso of the State of Santa Catarina stay genetically different. The results of this study confirm the efficacy of miniplex NC02 for human identification, such as those obtained by other authors and previously published.

Keywords: miniSTRs, *D4S2364*, *D2S441*, *DIS1677*, Forensic Genetics.

Lista de Tabelas

Tabela 1. Lista de Marcadores miniSTRs, com suas devidas localizações, variabilidade, número de alelos e sequência repetitiva. Fonte: Hill <i>et al.</i> , 2006.	12
Tabela 2. Sequência dos Primers dos miniSTRs analisados. (Modificado de Genbank, 2010).	19
Tabela 3. Lista de artigos utilizados para comparação, com seus respectivos autores e região.....	23
Tabela 4. Frequências alélicas, heterozigosidade esperada e observada estimadas na amostra populacional do Estado de Santa Catarina para os 3 marcadores polimórficos autossômicos estudados.	25
Tabela 5. Distribuição das frequências alélicas nos 3 marcadores miniSTRs autossômicos na população das 6 mesorregiões de Santa Catarina.	27
Tabela 6. Valores de F_{ST} para as mesorregiões do Estado de Santa Catarina.	31

Lista de Figuras

Figura 1. Distribuição de indivíduos da população total do Estado de Santa Catarina para cada uma das categorias de cor/ etnia (Fonte: IBGE).	3
Figura 2. Organização do Genoma Humano (modificada de STRACHAN & READ, 2002).	8
Figura 3. Diferença na amplificação de STRs e miniSTRs, no caso dos miniSTRs, o <i>primer</i> se liga em uma região mais próxima do STR. (Fonte: http://www.cstl.nist.gov/strbase/miniSTR.htm).	10
Figura 4. Localização cromossômica dos 26 miniSTRs <i>Non Codis</i>	11
Figura 5. Localização geográfica do Estado de Santa Catarina, Brasil. Em sentido horário a partir da Capital de Santa Catarina (CSC), seguem as mesorregiões SSC - Sul de Santa Catarina, PSC - Planalto de Santa Catarina, OSC - Oeste de Santa Catarina, NSC - Norte de Santa Catarina e VSC - Vale de Santa Catarina.	17
Figura 6. Localização dos marcador <i>D4S2364</i> , <i>D2S441</i> e <i>D1S1677</i> em representação esquemática nos cromossomos humanos 4, 2 e 1 respectivamente. Fonte: Modificado de Pacheco (2010).	20
Figura 7. Genotipagem dos miniSTRs <i>D4S2364</i> , <i>D2S441</i> e <i>D1S1677</i> pelo ABI3130.	21
Figura 8. Representação Ilustrativa da diferença da posição dos primers em relação ao início da sequência repetitiva no caso de STRs e miniSTRs.	33

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 FORMAÇÃO DA POPULAÇÃO DE SANTA CATARINA..	1
1.2 VARIABILIDADE GENÉTICA DAS POPULAÇÕES HUMANAS.....	4
1.3 MARCADORES GENÉTICOS.....	6
1.4 BANCO DE DADOS DE DNA	12
2. OBJETIVOS.....	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 COLETAS DO MATERIAL BIOLÓGICO.....	17
3.2 EXTRAÇÕES, PURIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE DNA.....	19
3.3 AMPLIFICAÇÃO DO DNA.....	19
3.4 GENOTIPAGEM	20
3.5 ANÁLISES GENÉTICAS.....	21
3.6 COMPARAÇÃO COM OUTRAS PUBLICAÇÕES.....	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1 FREQUÊNCIAS ALÉLICAS PARA POPULAÇÃO TOTAL DE SANTA CATARINA.....	25
4.2 MESORREGIÕES DO ESTADO DE SANTA CATARINA	26
4.3 UTILIZAÇÃO DE MARCADORES MINISTRIS EM AMOSTRAS DEGRADADAS.....	32

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
REFERÊNCIAS.....	37
APÊNDICES	47
ANEXOS.....	51

1. INTRODUÇÃO

1.1 FORMAÇÃO DA POPULAÇÃO DE SANTA CATARINA

O território brasileiro foi primeiramente colonizado por diversos grupos Ameríndios que chegaram ao continente milhares de anos antes dos primeiros registros de Europeus. Estima-se que o tamanho da população de Nativos Americanos na época da chegada oficial dos colonizadores portugueses era em torno de dois milhões de indivíduos (SALZANO & BORTOLINI, 2002).

Durante as primeiras ondas colonizadoras, aproximadamente 500.000 portugueses chegaram ao Brasil no período de 1500-1808 (CARVALHO-SILVA *et al.*, 2001) e estes promoveram também a vinda dos primeiros africanos, trazidos como escravos. Entre o período de 1550 e 1855, cerca de quatro milhões de Africanos (especialmente do centro oeste africano) foram forçados a migrar para o Brasil.

Outra importante onda migratória ocorreu no século XIX e início do século XX, quando mais de cinco milhões de imigrantes chegaram oficialmente ao Brasil. Portugueses e Italianos chegaram em números aproximadamente iguais (1.8 e 1.6 milhões, respectivamente), seguidos por Espanhóis, Alemães, Sírios, Libaneses e Japoneses (CARVALHO-SILVA *et al.*, 2001). A distribuição destes imigrantes foi desigual no território brasileiro, tendo contribuições diferenciadas em cada Estado. Por exemplo, enquanto a maioria dos alemães foi para a região sul (especificamente Santa Catarina e Rio Grande do Sul), japoneses mantiveram-se agrupados em São Paulo. Por conta do histórico miscigenado na formação do território nacional, o Brasil é caracterizado por alguns autores como uma população bastante heterogênea (MARRERO *et al.*, 2005; PENA *et al.*, 2011).

Embora haja uma tendência bem conhecida para casamentos dentro dos mesmos grupos de identidade, tem havido na América Pós-Colombiana exceções tão extensas que se pode dizer que, por diversas razões, a miscigenação passou a ser a característica básica que distingue as populações neo-americanas das demais (SALZANO & BORTOLINI, 2002).

A população do estado de Santa Catarina passou por este processo de colonização e miscigenação e, hoje, é formada por diversas etnias sendo que as descendências portuguesa, alemã e italiana são as

mais comuns, seguidas por aquelas tais como escravos, poloneses, ameríndios e africanos (IBGE, 2010).

A ocupação humana no território de Santa Catarina data de aproximadamente 4.500 anos e teve início com populações indígenas que eram distribuídas diferentemente entre as mesorregiões catarinenses: na região Oeste encontravam-se os povos da família Macro-Jê; na região Serrana, os Xokleng; enquanto o litoral foi habitado primeiramente pelos homens do Sambaqui, sucedidos pelos homens de tradição Itararé e, finalmente, pelo último grupo ameríndio a habitar a costa catarinense, os Carijó¹, do grupo Guaraní. Sendo os Carijó, o grupo que habitava o litoral catarinense na época do descobrimento do país (MOSIMANN, 2010).

No período da chegada dos portugueses ao Brasil, a Ilha de Santa Catarina passou a ser considerada um porto estratégico na rota das expedições exploradoras devido a sua localização privilegiada (DERENGOSKI, 2002). Junto com a chegada dos colonizadores europeus, os africanos foram trazidos para executar tarefas escravagistas. Desta forma, formou-se a clássica tríade de miscigenação da população brasileira também no estado de Santa Catarina, com representantes ameríndios, europeus e africanos (MOSIMANN, 2010).

A chegada dos açorianos no século XVIII foi um marco da história catarinense, dada a forte influência na caracterização cultural da costa catarinense. Após os açorianos, os primeiros imigrantes não-lusitanos a chegarem ao território catarinense foram os alemães, que formaram povoamentos, tais como aqueles estabelecidos em Blumenau (1850), Joinville (1851), Brusque (1860) e São Bento do Sul (1873), cada um com suas características próprias (SANTOS, 2004).

Posteriormente chegaram os italianos, vindos ao Brasil devido às dificuldades econômicas na Itália. Fundaram colônias no Vale do Itajaí-Açu em 1875, com a chegada a Blumenau de 30 famílias provenientes da região de Trento (PIAZZA & HUBENER, 2003). No oeste catarinense a colonização ocorreu como consequência da expansão

¹ Escreve-se Carijó (no singular) e não Carijós (no plural), pois segundo a convenção para a Grafia de Nomes Tribais, assinada pelos participantes da 1ª Reunião Brasileira de Antropologia, no Rio de Janeiro em 1953, para uniformizar a maneira de escrever os nomes das sociedades indígenas em língua portuguesa: “os nomes tribais, quer usados como substantivos, quer como adjetivos, não terão flexão de gênero e de número, a não ser que sejam de origem portuguesa ou morficamente aportuguesados” (Derengoski, 2002). O mesmo critério foi adotado a todas as grafias tribais.

agrícola a partir do Noroeste do Rio Grande do Sul, que foi intensificando seu avanço para o interior do Estado de Santa Catarina (SANTOS, 2004).

Ainda no século XIX, diversas outras pequenas ondas migratórias aconteceram no Estado: espanhóis, belgas, poloneses, gregos e alguns alemães tardios se estabeleceram na atual região de Grande Florianópolis; franceses e poloneses povoaram a região Norte do Estado, juntamente com alemães e italianos; poloneses e alemães estabeleceram colônias no Vale do Itajaí; ucranianos e especialmente italianos povoaram a região Sul de Santa Catarina (MOSIMANN, 2010). Árabes fixaram-se de início em zonas portuárias (São Francisco do Sul, Florianópolis, Itajaí, Laguna) e antepostos (Joinville), espalhando-se ao longo das ferrovias (Blumenau, Tubarão, Criciúma) nas décadas seguintes (PIAZZA, 1988).

O Estado de Santa Catarina é composto, segundo o censo do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) de 2010, por 6.248.436 pessoas e possui uma densidade populacional de 65,29 habitantes por km², de acordo com a contagem populacional e estimativas realizadas (IBGE, 2010). A pesquisa nacional por amostragem de domicílios do IBGE, em 2007, apontou que população do Estado de Santa Catarina composta majoritariamente por indivíduos classificados fenotipicamente como brancos (Figura 1).

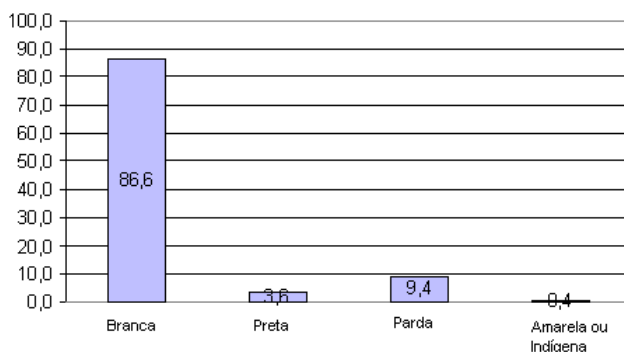


Figura 1. Distribuição de indivíduos da população total do Estado de Santa Catarina para cada uma das categorias de cor/etnia (Fonte: IBGE, 2011).

1.2 VARIABILIDADE GENÉTICA DAS POPULAÇÕES HUMANAS

Investigações que envolvem sociedades humanas são complexas porque as relações entre os indivíduos determinam sua estrutura populacional (BATTILANA, 2005). As pesquisas sobre linhagem ajudam na interpretação de dados genéticos e vice-versa. Embora a variação genética ocorra entre as populações nos níveis de morfologia, cariótipo e proteínas, ela não deixa de ser uma questão de variação nas sequências de ácido desoxirribonucléico (DNA). Dois processos muito importantes são responsáveis pela variabilidade genética: mutação e recombinação (GRIFFITHS *et al.*, 2009). A mutação é uma alteração na sequência de DNA enquanto a recombinação é o processo que faz com que alelos diferentes se tornem agrupados em novas combinações. Griffiths *et al.* (2009) criam uma analogia, dizendo que “a mutação produz novas cartas de baralho, e, então, a recombinação as mistura criando novos conjuntos”.

Os seres humanos diferem consideravelmente quanto à sua composição genética. Cada indivíduo representa um experimento evolutivo singular – não houve e não haverá algum outro indivíduo igual (CAVALLI-SFORZA *et al.*, 1994). A constituição genética de um ser humano é de aproximadamente três milhões de pares de bases dos quais apenas 10 a 15% parecem realmente ser genes (PIERCE, 2012). A diferenciação genética entre os indivíduos torna-se mais evidente quando populações distintas são investigadas, motivo pelo qual o entendimento da composição genética entre as populações humanas está ocupando cada vez mais, uma posição de destaque na ciência.

A variabilidade genética pode ser observada ao nível do produto gênico (proteínas e enzimas), mas segundo Paradela e colaboradores (2006), pode ser caracterizada com uma precisão maior, analisando-se o DNA. Dois seres humanos escolhidos ao acaso apresentam uma diferença genética de um a cada 500 nucleotídeos. O genoma humano apresenta 3×10^9 nucleotídeos, isto nos leva a cerca de seis milhões de diferenças (PENA, 1997).

A maior parte do DNA humano ainda não tem função elucidada, motivo pelo qual foi denominada por alguns autores como DNA lixo (MAGUEIJO, 2003). Parte deste DNA inclui regiões denominadas de satélites, que consistem em sequências repetitivas construídas com diferentes combinações das quatro (4) bases nitrogenadas repetidas

inúmeras vezes – sequências de DNA repetidas em *tandem* (STRs, do inglês, *Short Tandem Repeat*) (PIERCE, 2012).

O primeiro caso de identificação criminal através de exames de DNA ocorreu em 1985, na Inglaterra. Num pequeno condado, rodeado de montanhas e com uma única entrada de acesso, uma mulher foi estuprada e assassinada. O geneticista Alec Jeffreys e sua equipe coletaram e analisaram o DNA obtido a partir do esperma encontrado na vítima. Quando outro crime similar ocorreu na região, novamente o material foi coletado e a análise do DNA mostrou pertencer ao mesmo homem. Com a finalidade de identificar o agressor, as autoridades locais forjaram uma campanha de doação de sangue entre todos os habitantes do condado, mas nenhum perfil dos doadores foi igual ao do perfil criminoso. A polícia prosseguiu com as investigações e descobriu que havia um viajante no condado. Quando o sujeito voltou, foi convidado a doar sangue. Feito o teste de DNA no sangue colhido, os geneticistas concluíram que o perfil era o mesmo do estuprador (DOLINSKY *et al.*, 2007). Embora a estratégia de rastreamento seja atualmente considerada antiética, desde então o uso do DNA para solucionar crimes vem sendo usada como uma ferramenta de grande importância.

Ao longo das últimas décadas, a análise da sequência do DNA revolucionou a ciência forense e tornou-se um instrumento dominante na aplicação da lei (SOUZA *et al.*, 2010). Hoje, a evidência dada pela identificação do DNA é a chave para a condenação ou exoneração de suspeitos de vários tipos de crimes, como roubo, estupro e assassinato desde que haja uma amostra biológica a ser analisada (MORLING *et al.*, 2011). O processo judicial atual que trata da evidência dada pela sequência do DNA começa na cena do crime, onde as amostras biológicas como sangue e manchas de saliva são detectadas, identificadas, documentadas, coletadas, e transferidas para o laboratório forense, processo denominado “Cadeia de Custódia”. No laboratório, o DNA é extraído, quantificado, amplificado e analisado visando um resultado de exclusão ou inclusão (FRUMKIN *et al.*, 2009).

Nos últimos anos, dentro da comunidade da genética forense, um conjunto de marcadores moleculares foi desenvolvido para utilização em tratamento de casos forenses, e houve a criação de grandes bases de dados, entre as quais merece destaque o CODIS (*Combined DNA Index System*, programa de gerenciamento de perfis genéticos feito pelo FBI) que têm incorporado tais marcadores (BUTLER *et al.*, 2003). O CODIS é um sistema informático que armazena perfis de DNA criados por laboratórios criminais (locais, estaduais e federais) dos Estados Unidos e

que permite buscas na base de dados com o objetivo de identificar semelhanças entre perfis. Os esforços visando o desenvolvimento da Genética Forense no cenário Nacional resultaram, em 2009, na assinatura do Termo de Compromisso para utilização do *software* CODIS no Brasil. Em 2010 foi feita no Brasil a maior implementação do programa CODIS fora dos EUA, incluindo 15 laboratórios estaduais, um laboratório federal, mais os bancos nacionais, tanto do CODIS 5.7.4 (criminal), quanto do CODIS 6.1 (pessoas desaparecidas) (AGUIAR *et al.*, 2011).

Para complementar os *loci* CODIS na análise forense de DNA degradado, alguns outros marcadores foram criados, tais como os miniSTRs *Non Codis* (NC). Hill e colaboradores (2006) calculou a heterozigotidade desses *loci* NC e verificou que os valores obtidos eram comparáveis aos *primers* convencionais, com o adição desses *primers* NC apresentarem tamanhos menores do produto amplificado, por isso eles têm sendo utilizados no âmbito forense.

1.3 MARCADORES GENÉTICOS

A *priori*, qualquer caráter mendeliano pode ser utilizado como marcador genético. Melhor ainda se a tipificação do caráter tiver um baixo custo, for obtido a partir de material de fácil obtenção e puder ser catalogado com facilidade. Porém, o ponto crucial na escolha é que ele deve ser variável o suficiente para que uma pessoa, tomada ao acaso, tenha uma boa chance de ser heterozigota, no caso do *locus* considerado estar localizado em cromossomos autossômicos. Entretanto, o conceito não é diferente se forem considerados sistemas haplóides como é o caso dos marcadores localizados na região não recombinante do cromossomo Y (NRY) e no genoma mitocondrial (mtDNA): deve haver variação suficiente entre duas pessoas tomadas ao acaso na população (NEI, 1987; PIERCE, 2012).

Até meados de 1980, o desenvolvimento na genética de populações humanas era limitado a um número relativamente pequeno de marcadores protéicos, t m m chamados “polimorfismos clássicos” (PIERCE, 2012). Foi no início da década de 1980 que, pela primeira vez, os polimorfismos de DNA constituíram um conjunto de marcadores suficientemente numerosos, os quais estavam t m m distribuídos por todo o genoma.

Com o avanço da genética molecular, os marcadores do DNA passaram a ser mais utilizados, uma vez que a análise de polimorfismos

diretamente relacionados com a sequência do DNA apresenta vantagens em relação ao uso da proteína (KOHLRAUSCH, 2003).

Dentre os vários marcadores moleculares, os RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphisms*) foram os primeiros a serem utilizados em estudos de identificação humana e populacionais (JEFFREYS *et al.*, 1985). Posteriormente, com o advento da reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês *Polimerase Chain Reaction*) e de técnicas de sequenciamento direto, novos marcadores moleculares passaram a ser utilizados, com base na organização do genoma humano (figura 2). Dentre estes, podem ser citados os marcadores uniparentais como os do cromossomo Y e do DNA mitocondrial, os polimorfismos de nucleotídeo único, os SNPs (do inglês, *single nucleotide polymorphisms*), pequenas inserções e deleções bialélicas conhecidas como *InDels*, elementos de transposição (LINEs e SINEs), e os VNTRs (do inglês, *Variable Number of Tandem Repeats* = repetições em tandem de número variável) aqueles classificados como polimorfismos de comprimento, caracterizados pela sucessiva repetição de sequências de nucleotídeos (GRIFFITHS *et al.*, 2009).

Os VNTRs podem ser divididos em três classes de acordo com o tamanho das repetições, a saber: satélites (100 ou mais nucleotídeos), minissatélites (15 a 100 nucleotídeos) e microssatélites (sequências repetidas de 2 a 6 nucleotídeos) (GRIFFITHS *et al.*, 2009). Os microssatélites (também conhecidos como STRs – do inglês *Short Tandem Repeats*) estão dispersos por todo o genoma humano. Estima-se que os STRs ocorram a cada 10.000 nucleotídeos sendo considerados marcadores de evolução rápida. Quanto às suas características, estes marcadores combinam várias propriedades desejáveis como altos níveis de polimorfismo, dispersão uniforme, alto nível de reprodutividade, codominância e possibilidade de genotipagem por métodos rápidos e simples (PIERCE, 2012)

Além de serem utilizados para a identificação de pessoas, os marcadores moleculares também são importantes marcadores de ancestralidade (PARRA *et al.*, 2003). Ao utilizar estes marcadores com um propósito forense, por exemplo, a utilização de um número suficiente de *loci* de minissatélites permite inferir a inclusão ou exclusão de um suposto criminoso (JOBIM, 2008).

Quando se trata de casos forenses, as amostras de DNA dificilmente são puras, ou seja, livre de degradação e contaminação com outras substâncias ou amostras. Se o DNA for exposto a elementos químicos ou ao fogo por algum período de tempo, a degradação pode

ocorrer devido à ação de bactérias ou processos oxidativos (BAR *et al.*, 1988). Além disso, pode haver contaminantes ambientais misturados com as provas forenses (BUTLER *et al.*, 2003).

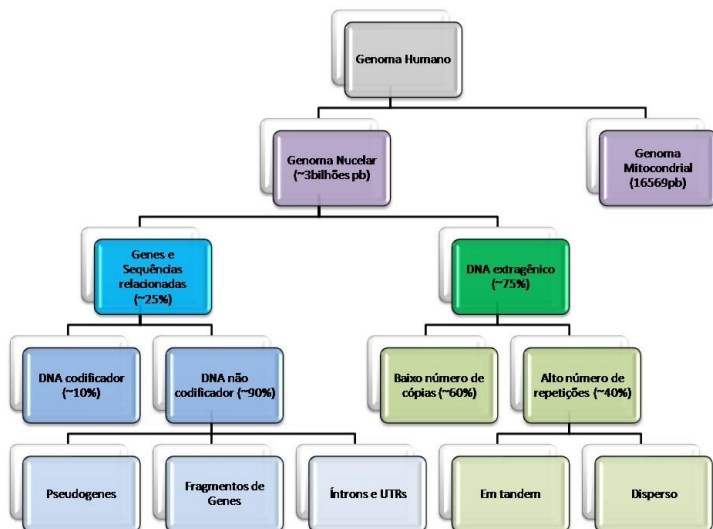


Figura 2. Organização do Genoma Humano (modificada de STRACHAN & READ, 2002).

Em algumas situações, as amostras de DNA são tão degradadas que a análise de STRs não é possível. Nestes casos, normalmente usa-se a análise das regiões hipervariáveis do mtDNA, um cromossomo extranuclear circular de dupla cadeia de DNA (ANDERSON *et al.*, 1981) sem íntrons e, com exceção de poucos nucleotídeos não codificantes entre alguns genes, a única região que se considera não codificante de proteínas no mtDNA é a *displacement loop* (D-loop ou alça D). A alça D é a região mais variável do genoma mitocondrial e a maior parte dos sítios polimórficos desta alça estão concentrados em três segmentos hipervariáveis (HVS *hypervariable segment*): HVS I, HVS II e HVS III.

O mtDNA ocorre em diversas cópias por célula, com taxa de evolução considerada extremamente alta, sendo no mínimo 5 vezes maior que a dos genes nucleares dos cromossomos autossomos

(SHAFFNER, 2004). Porém, o teste com o mtDNA tem algumas limitações quanto ao poder de discriminação visto que obedece uma herança materno-haplóide, quando comparado com os marcadores autossômicos multilocus dos STRs (COBLE *et al.*, 2005).

Existe grande dificuldade de obtenção de resultados ao trabalhar com amostras degradadas de DNA ou amostras contaminadas por inibidores de reação de PCR, principalmente dos fragmentos maiores, pelo fato de os *primers* de STRs existentes não conseguirem amplificar todo o marcador por conta de seu tamanho maior (BUTLER, 2005; BUTLER *et al.*, 2003; BUTLER, 2006; COBLE *et al.*, 2005). Por essa razão a utilização de técnicas mais sensíveis em que se estudam STRs de tamanho reduzido, os **miniSTRs**, tem sido estimuladas. Os miniSTRs (Figura 3) referem-se aos mesmos polimorfismos, mas cujas técnicas foram desenvolvidas para originarem fragmentos de DNA menores após a reação de PCR, devido a deslocamentos na região de ligação dos *primers* para o mais próximo possível da região polimórfica repetitiva, gerando produtos de PCR menores e que podem oferecer resultados mais consistentes nos casos em que se analisam amostras de DNA altamente degradadas (FAGUNDES, 2010).

A redução do tamanho das regiões a serem amplificadas foi uma avanço genético que permitiu os novos testes (COBLE *et al.*, 2005). Butler e colaboradores (2003) publicaram um conjunto de *primers* miniSTRs *CODIS* que permite a redução máxima no tamanho para todos os 13 *loci* STR CODIS, juntamente com o *D2S1338*, Penta D, E e *loci* Penta encontrados em kits comerciais de STRs.

O uso dos marcadores miniSTRs é uma ferramenta valiosa no laboratório forense, pois permite obter uma alta qualidade de perfis genéticos de uma amostra com um baixo número de cópias ou de DNA altamente degradado tomadas a partir de diferentes materiais, tais como cadáveres, tecidos em parafina, vestígios de saliva, pedaços de pano e bitucas de cigarro contaminados com material biológico, amostras de osso, entre outros (BOROSKY *et al.*, 2009).

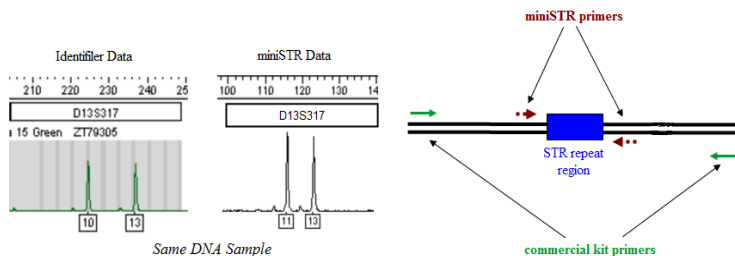


Figura 3. Diferença na amplificação de STRs e miniSTRs, no caso dos miniSTRs, o *primer* se liga em uma região mais próxima do STR. (Fonte: <http://www.cstl.nist.gov/strbase/miniSTR.htm>).

Esses miniSTRs otimizam a análise do DNA parcialmente degradado, podendo aumentar o poder de discriminação para os casos forenses (GILL *et al.*, 2006). Além do seu uso em amostras degradadas, os miniSTRs podem ser utilizados em testes rotineiros de paternidade, nos quais marcadores adicionais são requeridos para aumentar o poder de exclusão (GOODWIN *et al.*, 2004) ou em complexos casos de paternidade (por exemplo incesto) (COBLE *et al.*, 2005).

Uma vantagem adicional destes miniSTRs, é que a compatibilidade do banco de dados pode ser mantida com amostras processadas de agressores condenados utilizando o sistema comercial STRs *multiplex* (BUTLER *et al.*, 2003). Somada a possibilidade de se estudar simultaneamente várias regiões polimórficas, através de reações do tipo *multiplex*, com o uso de diferentes fluoróforos e tamanhos distintos de produtos amplificados, permitindo análises com alto poder de discriminação entre indivíduos da população, sem consumir grandes quantidades de reagentes e do próprio DNA extraído, uma vez que a técnica é mais sensível a quantidades menores do produto amplificado (BUTLER, 2007). Além disso, estes tamanhos menores do produto são analisados de forma mais favorável por tecnologias alternativas, tais como tempo de corrida de espectrometria de massa (BUTLER, 2001) e as rápidas separações eletroforéticas (SCHMALZING *et al.*, 1997).

Hill e colaboradores (2006) desenvolveram e caracterizaram um total de vinte e seis (26) marcadores miniSTRs autossômicos *non-codis* (NC) para auxílio nas análises de DNA degradado (Figura 4). Esses marcadores são amplificados por PCR em fragmentos pequenos, de 50 a 150 pares de bases (pb) e não fazem parte dos marcadores que compõe o

Banco de Perfis gerado pelo FBI (CODIS). Os miniSTRs estão listados na Tabela 1 (HILL *et al.* 2006).

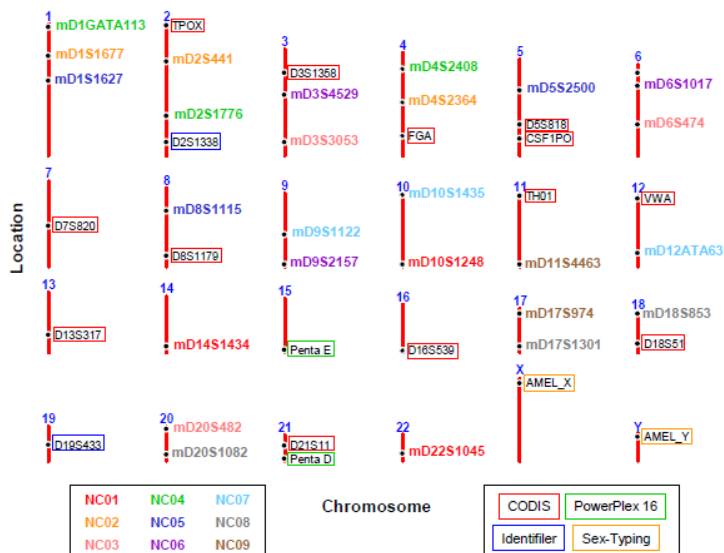


Figura 4. Localização cromossômica dos 26 miniSTRs *Non Codis* (NC). Os miniSTRs NC02 estudados nesse trabalho são: *D4S2364*, *D2S441* e *DIS1677*.

A nomenclatura destes *loci* polimórficos segue os critérios de Butler (2005) de localização cromossômica onde D refere-se à molécula de DNA, seguido pelo número que identifica o cromossomo, a letra S indica sequência de cópia única e o valor numérico a ordem da descoberta e caracterização no referido cromossomo. Por exemplo, o *locus DIS1677* indica o 1677 polimorfismo caracterizado na fita de DNA do cromossomo 1 (PACHECO, 2010).

1.4 BANCO DE DADOS DE DNA

Nos Estados Unidos, pesquisas de laboratórios criminais apontam que em mais de 40% dos vestígios encontrados no local do crime sexual ou homicídio podem ser examinados por análise da sequência do DNA. Nos estudos de Ciências Forenses Britânico, 50% dos crimes contra o patrimônio possuem vestígios biológicos também capazes de serem examinados geneticamente. Porém, em menos de 1% dos casos um suspeito é apresentado para a comparação (LIMA, 2007).

Tabela 1. Lista de Marcadores miniSTRs, com suas devidas localizações, variabilidade, número de alelos e sequência repetitiva. Fonte: Hill *et al.*, 2006.

Marcador	Localização	Tamanho Variável (pb)	Número de Alelos	Sequência Repetitiva
D4S2364	4q22.3	67-83	8-12	GRAT
D2S441	2p14	78-110	9-17	TCTA
D1S1677	1q23.3	81-117	9-18	TTCC
D3S3053	3q26.31	84-108	7-13	TATC
D6S474	6q21	107-136	10-17	AGAT
D20S482	20p13	85-126	9-19	AGAT
D1S1627	1p21.1	81-100	10-16	ATT
D5S2500	5q11.2	85-126	14-24	GRYW
D8S1115	8p11.21	63-96	9-20	ATT
D9S1122	9q21.2	93-125	9-17	TAGA
D10S1435	10p15.3	82-139	5-19	TATC
D12ATA63	12q23.3	76-106	9-19	YAA
D17S974	17p13.1	95-124	5-12	CTAT
D10S1248	10q26.3	79-123	8-19	GGAA
D14S1434	14q32.13	70-98	13-20	CTRT
D22S1045	22q12.3	82-115	8-19	ATT
D1GATA113	1p36.23	81-105	7-13	GATA
D2S1776	2q24.3	127-162	7-15	AGAT
D4S2408	4p15.1	85-109	7-13	ATCT
D3S4529	3p12.1	111-139	13-20	ATYT
D9S2157	9q34.2	71-107	7-19	ATA
D18S853	18p11.31	82-104	9-16	ATA
D17S1301	17q25.1	114-139	9-15	AGAT
D4S2364	20q13.2	73-101	8-17	ATA
D11S4463	11q25	88-116	10-17	TATC
D6S1017	6p21.1	81-110	6-13	ATCC

R (G ou A); Y (T ou C) e W (A ou T) de acordo com a nomenclatura IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) (IUPAC-IUB, 1970).

Países como Estados Unidos e Inglaterra encontraram uma possível solução para o problema do não comparecimento do suspeito para comparação: a criação de um banco de dados de DNA dos seus indivíduos. Após a criação do banco de DNA, mesmo os crimes sem suspeitos são investigados, visto que estes países possuem milhares de perfis genéticos armazenados provenientes de pessoas que foram geneticamente tipadas em outras oportunidades e que podem ser usados para comparação com os dados genéticos dos vestígios biológicos encontrados em casos forenses (LIMA, 2007).

Um exemplo é a existência de um banco de dados de perfis genéticos de todos os indivíduos condenados que podem ser confrontados aos perfis obtidos de vestígios em vítimas e em locais de crime, através do qual o criminoso pode ser identificado mesmo que em outra época, outro tipo de crime ou outro Estado do país. Dessa maneira, aumenta consideravelmente a possibilidade de identificação do agressor. Pode-se também comparar os dados com perfis de vestígios obtidos de outras vítimas e de outros locais de crime, dessa forma, estabelecendo a relação entre diversos crimes cometidos pelo mesmo indivíduo. Um banco de dados de perfis genéticos permite resolução de crimes para os quais não há nenhum suspeito, e que de outra forma permaneceriam insolúveis (MICHELIN *et al.*, 2007).

Nos bancos de dados podem ser inseridas e armazenadas informações genéticas para um determinado fim, usualmente para facilitar ou promover a identificação de um indivíduo por comparação com os perfis armazenados (JACQUES *et al.*, 2007). Outro enfoque é estimar a frequência genotípica de uma determinada população uma vez que, segundo Fagundes (2010), para se ter um uso correto e uma melhor interpretação dos resultados das análises dos marcadores STRs na Genética Forense, faz-se necessária a implementação de um banco de dados de frequência alélicas para a população onde os sistemas serão utilizados.

No Brasil, foi publicado no Diário Oficial da União um extrato de contrato (Nº 68/2011, do dia 19 de agosto de 2011) com o Termo de Cessão gratuita de uso de equipamentos (*hardwares*) e programas disponíveis comercialmente (*softwares*) pela SENASP e a distribuição dos Programas CODIS 5.7.4 e CODIS 6.0 pelo DPF, necessários para a implantação da Rede Integrada de Perfis Genéticos (RIBPG), com fundamento no Acordo de Cooperação Técnica assinado entre os partícipes (BRASIL, 2011). O Ministério da Justiça criou um Grupo de

Trabalho para propor ações, normas e critérios para o funcionamento da RIBPG (AGUIAR, 2011).

Segundo Fagundes (2010), os últimos avanços no Brasil em relação à Implementação do CODIS foram 1) a criação de Acordos de Cooperação Técnica entre SSP estaduais, SENASP e Polícia Federal, 2) a utilização do CODIS na identificação das vítimas do acidente aéreo ocorrido em 2011 envolvendo um avião da *Air France*, 3) a aquisição de servidores de dados, 4) a própria instalação do CODIS seguido do treinamento de 20 peritos para operarem o CODIS e 5) a distribuição e instalação dos servidores em 15 Estados. A estratégia principal do governo em parceria com a polícia federal e o SENASP é a implantação de laboratórios de DNA Forense em todo o território nacional.

O Banco de Perfis deverá conter um código identificador da amostra, o perfil de DNA, a codificação da identidade do laboratório e do órgão, a natureza biológica do vestígio de onde se extraiu o perfil e o gênero da pessoa a partir da qual o perfil foi proveniente. Entretanto, o Brasil ainda não possui uma legislação relacionada à utilização de um Banco de Perfis, tornando necessária a criação de uma lei específica para normatizar o funcionamento da RIBPG, que permita a utilização de bancos de perfis genéticos na análise pericial criminal e que esteja de acordo com a Constituição e com os acordos internacionais (FAGUNDES, 2010).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar a variabilidade genética da população do Estado de Santa Catarina com base na análise de três *loci* autossômicos miniSTRs, conhecidos como NC02 (*Non-Codis* 02) visando avaliar a estruturação da população catarinense, dado o grau de contribuição dos grupos considerados ancestrais (ameríndios, europeus e africanos) de forma que sejam eficientemente aplicados como marcadores em genética forense.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Determinar as frequências alélicas de três miniSTRs (*D4S2364*, *D2S441* e *DIS1677*) em uma amostra da população do Estado de Santa Catarina dividida em suas seis mesorregiões (Norte, Sul, Vale, Planalto Serrano, Oeste e Capital);
- ❖ Comparar as frequências entre as mesorregiões Norte, Sul, Vale, Planalto Serrano, Oeste e Capital, verificando o grau de estratificação populacional com base nestes marcadores;
- ❖ Estabelecer comparações entre as frequências dos miniSTRs (*D4S2364*, *D2S441* e *DIS1677*) na população de Santa Catarina e suas seis mesorregiões com frequências de populações migrantes disponíveis na literatura;
- ❖ Demonstrar a eficiência dos miniSTRs em amostras degradadas;
- ❖ Implementar um banco de frequências populacionais regionais no estado de Santa Catarina, para estes marcadores, a fim de permitir futuras análises forenses.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COLETAS DO MATERIAL BIOLÓGICO

Para a realização do estudo populacional, foram coletadas amostras biológicas das seis (06) mesorregiões de Santa Catarina (IBGE, 1990): Grande Florianópolis (CSC), Norte Catarinense (NSC), Oeste Catarinense (OSC), Serrana (PSC), Sul Catarinense (SSC) e Vale do Itajaí (VSC) (Figura 5).

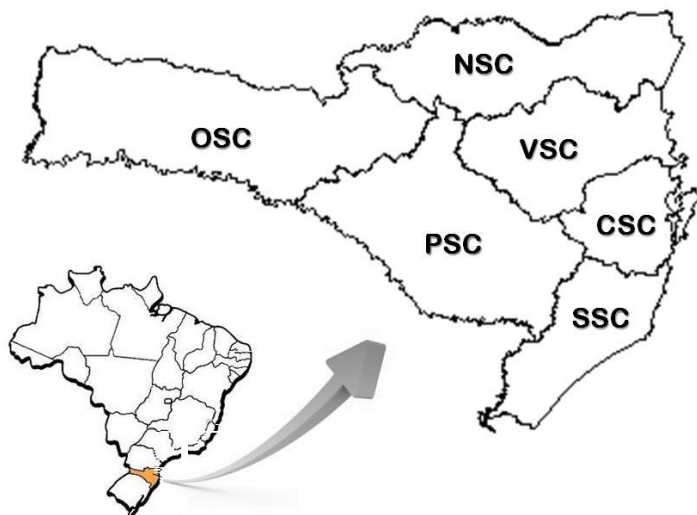


Figura 5. Localização geográfica do Estado de Santa Catarina, Brasil. Em sentido horário a partir da Capital de Santa Catarina (CSC), seguem as mesorregiões SSC - Sul de Santa Catarina, PSC - Planalto de Santa Catarina, OSC - Oeste de Santa Catarina, NSC - Norte de Santa Catarina e VSC - Vale de Santa Catarina.

Foi coletado sangue periférico de um total de 180 indivíduos doadores do Centro de Hematologia e Hemoterapia de Santa Catarina (HEMOSC). Foram coletadas amostras de trinta (30) indivíduos da

região OSC, representado pelo posto de coleta do HEMOSC unidade de Chapecó e Joaçaba, trinta (30) indivíduos da região NSC, posto de coleta de Joinville, trinta (30) indivíduos da região do VSC, posto de coleta de Blumenau, trinta (30) indivíduos da região da CSC, posto de coleta de Florianópolis, trinta (30) indivíduos da região SSC, posto de coleta de Criciúma, e trinta (30) indivíduos da região PSC, posto de coleta de Lages.

Os participantes são voluntários com nenhuma relação de parentesco entre si que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE – anexo 1), responderam a um questionário (anexo 2) para obtenção de dados epidemiológicos e consentiram a coleta de sangue para fins de pesquisa. As informações foram compiladas de forma anônima e os resultados obtidos foram restringidos ao escopo populacional, não tratando de características patológicas. Os resultados obtidos não foram divulgados diretamente ao doador, porém se algum doador quiser os resultados, têm o direito de solicitá-los, como previsto no projeto.

A amostra biológica populacional utilizada neste projeto foi integrada ao Banco de DNA do Laboratório de Polimorfismos Genéticos (**LAPOGE**) do Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), onde permanecerá sob responsabilidade da Dra. Ilíada Rainha de Souza, coordenadora do citado laboratório.

Para a realização do estudo forense, foram utilizadas duas (2) amostras de DNA degradado provenientes do Instituto Geral de Perícias (IGP-SC), com as seguintes nomenclaturas: 2011165 e 201139. Ambas amostras haviam sido previamente testadas com *primers* convencionais, porém o perfil genético não foi obtido em detrimento do nível de degradação de tais amostras. Por essa razão, foram utilizadas para testar a eficiência de *primers* miniSTRs para análise de amostras degradadas.

Este trabalho faz parte de um projeto maior, em vigência, intitulado “Estrutura genética e origem da população do Estado de Santa Catarina”, submetido e aprovado pelo: Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) da Universidade Federal de Santa Catarina, sob o parecer nº 1077/11 (Anexo 3).

3.2 EXTRAÇÕES, PURIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE DNA

Para a extração do DNA utilizou-se o protocolo do método Triton-X e proteinase-K (ERLICH, 1992) ou o método de extração orgânica, segundo os procedimentos estabelecidos pelo *Federal Bureau of Investigation* (FBI, 1996). Alíquotas das amostras extraídas foram submetidas à quantificação através do espectrofotômetro da *Pharmacia Biotech*, modelo Ultrospec 3000 e foram feitas soluções de uso na concentração de 10ng/μl. Este banco de DNA genômico foi estocado a -20°C.

3.3 AMPLIFICAÇÃO DO DNA

Para a amplificação do DNA, utilizaram-se reagentes que delimitam o local que se quer amplificar e os oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) amplificam regiões extensas do DNA. As soluções de DNA utilizadas neste trabalho foram submetidas ao processo de amplificação pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (SAIKI *et al.*, 1988), utilizando *primers*, organizados em triplex, por Coble e Butler (2005) (Tabela 2). Foi amplificado um conjunto de três miniSTRs autossômicos, correspondendo ao triplex NC02, sendo eles: *D4S2364*, *D2S441* e *DIS1677* (Figura 6), utilizando o termociclador GeneAmp® PCR System 9700, seguindo protocolos fornecidos pelo fabricante dos sistemas utilizados.

Tabela 2. Sequência dos *Primers* dos miniSTRs analisados. (Modificado de Genbank, 2010).

<i>Locus</i>	Sequência dos <i>Primers</i>
<i>D4S2364</i>	CAGTGAATAAATGAACGAATGGA (Forward)
	AATCATACCCACATGATCTCCTAG (Reverse)
<i>D2S441</i>	CTGTGGCTCATCTATGAAACTT (Forward)
	ATCATAACACCACAGCCACTT (Reverse)
<i>DIS1677</i>	TGACAGGAAGGACGGAATG (Forward)
	AAACACTGCTCTATACCAACAGAA (Reverse)

3.4 GENOTIPAGEM

As amostras foram submetidas à corrida eletroforética capilar seguida de detecção da fluorescência laser-induzida no analisador automático ABI PRISM™ 3130 (Figura 7), com auxílio dos *softwares* *Run 3130 Data Collection v.3.0* e *GeneMapper ID v.3.2*, ambos da empresa *Applied Biosystems*.

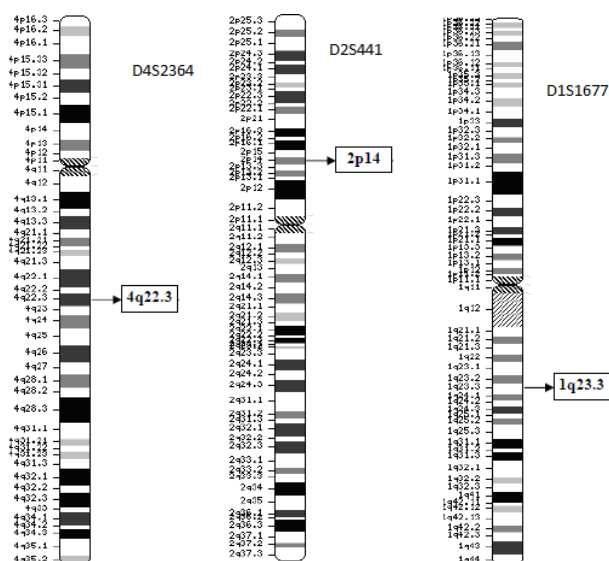


Figura 6. Localização dos marcadores *D4S2364*, *D2S441* e *D1S1677* em representação esquemática nos cromossomos humanos 4, 2 e 1 respectivamente. Fonte: Modificado de Pacheco (2010).

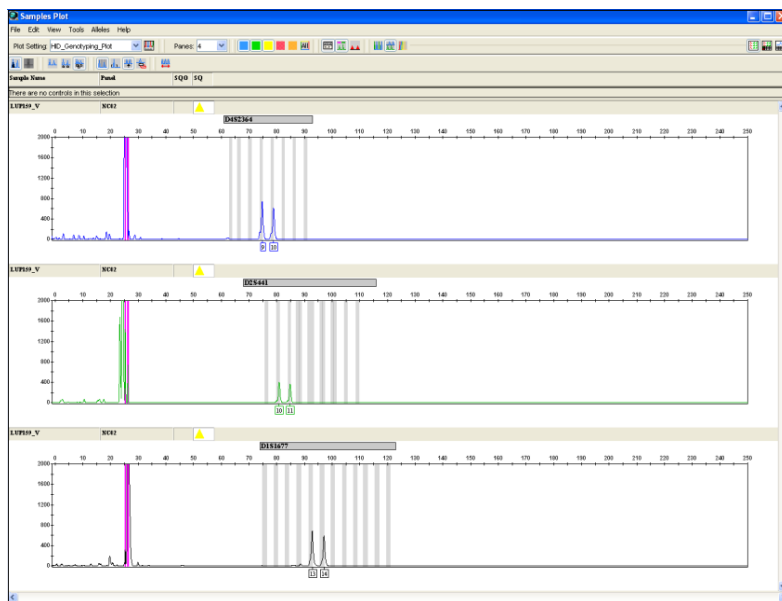


Figura 7. Genotipagem dos miniSTRs *D4S2364*, *D2S441* e *D1S1677* pelo ABI3130.

3.5 ANÁLISES GENÉTICAS

A diversidade gênica foi estimada com o auxílio do programa ARLEQUIN 3.5 (EXCOFFIER *et al.*, 2010). Também foi realizado o teste do Qui-quadrado (χ^2) para verificar se as frequências alélicas observadas se desviam das esperadas pela teoria de Hardy-Weinberg, e o cálculo de heterozigosidade esperada e observada. O valor de p igual ou menor a 0,05 foi adotado como limite de significância.

As frequências alélicas obtidas pela contagem direta dos alelos encontrados na população foram calculadas para cada um dos *loci* segundo Hartl & Clark (2010), considerando as populações de cada mesorregião e para o total da população amostrada. Considera-se um *locus* polimórfico quando o segundo alelo mais comum tem frequência superior a 0,01.

Outros índices analisados foram os de Heterozigosidade observada e Heterozigosidade esperada. Ambas são medidas de variabilidade genética. A heterozigosidade de um marcador é a

probabilidade de um indivíduo ser heterozigoto no *locus* marcador e depende do número de alelos e de sua frequência na população. A heterozigosidade observada é a proporção de indivíduos heterozigotos nas amostras da população (HARTL & CLARK, 2010).

Os valores de F_{ST} também foram obtidos, considerando o F_{ST} como a relação da média da diferença de pares de cromossomos de indivíduos diplóides amostrados com a média obtida de uma amostragem aleatória de cromossomos de uma população (excluindo o agrupamento por indivíduo). O F_{ST} considera agrupamentos como uma sub-população, ao invés de individuais (HARTL & CLARK, 2010). Caso o valor obtido seja zero entre duas populações significa que elas são idênticas, caso obtido um, as populações são absolutamente diferentes.

O Programa ARLEQUIN também foi usado para estimar a diferenciação genética das populações pela análise de variância molecular (AMOVA), que permite análises hierárquicas de componentes de variância genética (MUNIZ, 2008).

3.6 COMPARAÇÃO COM OUTRAS PUBLICAÇÕES

Os resultados obtidos por essas análises foram comparados com os obtidos em outras populações disponíveis na literatura. Os artigos utilizados para comparação estão discriminados na Tabela 3.

Tabela 3. Lista de artigos utilizados para comparação, com seus respectivos autores e região.

Região	Autor
Mulatos do Brasil – Rio de Janeiro	ARANDA <i>et al.</i> , 2011
Paraná	MALAGHINI <i>et al.</i> , 2009
Alemanha	HERZOG, 2007; SEIDER, 2010
Espanha	MARTIN, 2007
Itália	CORTELLINI, 2010; MASSETTI, 2009; TURRINA, 2007
Polônia	PARYS-PROSZEK, 2010
Hungria	MOLNAR, 2010
Estados Unidos	COBLE, 2005
Argentina	VULLO, 2010
Turquia	SIPAHI, 2011
Japão	ASAMURA, 2005
Coréia	CHUNG <i>et al.</i> , 2007

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 FREQUÊNCIAS ALÉLICAS PARA POPULAÇÃO TOTAL DE SANTA CATARINA

Todos os resultados obtidos nesse trabalho encontram-se no Apêndice 1. Os valores das frequências alélicas obtidos no Estado de Santa Catarina, bem como os valores de heterozigosidade esperada (H_e) e observada (H_o), encontram-se discriminados na Tabela 4. Sabendo que a heterozigosidade esperada é equivalente à quantidade de heterozigotos esperada em uma população panmítica, esta informação fornece uma idéia do nível de variação genética em uma população (NEI 1987).

Tabela 4. Frequências alélicas, heterozigosidade esperada e observada estimadas na amostra populacional do Estado de Santa Catarina para os 3 marcadores polimórficos autossômicos estudados.

ALELOS (n: 180)	<i>D4S2364</i>	<i>D2S441</i>	<i>DIS1677</i>
8	0,189	-	-
9	0,564	-	-
10	0,244	0,233	0,016
11	0,003	0,344	0,033
11.3	-	0,036	-
12	-	0,036	0,105
12.3	-	0,003	-
13	-	0,030	0,241
14	-	0,289	0,306
15	-	0,027	0,231
16	-	-	0,044
17	-	-	0,022
<i>p</i>	0,551	0,307	0,001*
Ho	0,555	0,728	0,766
He	0,588	0,741	0,782

(*): valor de $p < 0,05$; Ho: heterozigosidade observada; He: heterozigosidade esperada.

Não foi verificado desvios significativos ao equilíbrio de Hardy-Weinberg para os marcadores *D4S2364* e *D2S441* (0,551 e 0,307, respectivamente), então podemos afirmar que a heterozigosidade encontrada corresponde com a quantidade de heterozigotos na população. Porém, o marcador *DIS1677* apresentou como valor de p 0,001, não estando de acordo com o equilíbrio postulado. ~~ao acaso~~. Um erro amostral pode ter contribuído para obtenção deste resultado.

O levantamento da distribuição alélica revelou que o *locus* com menor número de alelos foi o *D4S2364*, com 4 alelos. Os *loci* *D2S441* e *DIS1677* apresentaram 8 alelos cada. As taxas de mutações em STRs são mais altas do que em outros tipos de marcadores, de uma a duas mutações a cada 1.000 gerações. Essas altas taxas de mutações favorecem o aparecimento de novos alelos. Se o marcador apresenta mais alelos, significa que ele passou por uma pressão de seleção menor, sofrendo mais mutações (ELLEGRÉN, 2004).

A maior frequência observada foi a do alelo *D4S2364**9, com o valor de 0,564. Para o *locus* *D4S2364* o alelo *9 foi o mais frequente na população total de Santa Catarina, com frequências alélicas variando de 0,003 a 0,564. Analisando o *locus* *D2S441* verificou-se que o alelo *D2S441**11 foi o mais frequente (0,344), e suas frequências alélicas variaram entre 0,003 até 0,344. Por último, o *locus* *DIS1677* teve como mais frequente o alelo *DIS1677**14 (0,306) contrastando com o alelo *DIS1677**10, cuja frequência foi de 0,016.

O *locus* *DIS1677* apresentou a maior heterozigosidade (H_o : 0,766), seguido de perto pelo *locus* *D2S441* (H_o : 0,728) e o *locus* *D4S2364* a menor (H_o : 0,555). Esse resultado é concordante com o que diz Butler (2005), uma vez que uma maior diversidade alélica existente significa um alto índice de heterozigose e quanto mais altas são as frequências alélicas menor é a taxa de heterozigose. O *locus* *D4S2364* apresenta apenas 4 alelos e a menor heterozigosidade quando comparado com os valores aproximados dos demais *loci* que apresentam 8 alelos.

4.2 MESORREGIÕES DO ESTADO DE SANTA CATARINA

Os valores das frequências alélicas obtidos nas seis mesoregiões do Estado de Santa Catarina, bem como os valores de heterozigosidade esperada e observada, encontram-se discriminados na Tabela 5.

Tabela 5. Distribuição das frequências alélicas nos 3 marcadores miniSTRs autossômicos na população das 6 mesorregiões de Santa Catarina.

Marcador	Alelo	Capital (CSC) (n= 30)	Oeste (OSC) (n= 30)	Planalto (PSC) (n= 30)	Vale (VSC) (n= 30)	Norte (NSC) (n= 30)	Sul (SSC) (n= 30)
D4S2364	8	0,133	0,166	0,266	0,100	0,300	0,166
	9	0,583	0,583	0,550	0,583	0,600	0,483
	10	0,283	0,233	0,183	0,316	0,100	0,350
	11	-	0,016	-	-	-	-
	p	0,413	0,474	0,045*	0,486	1	0,548
	Ho	0,633	0,500	0,466	0,466	0,533	0,733
	He	0,571	0,587	0,602	0,558	0,549	0,626
D2S441	10	0,250	0,216	0,150	0,266	0,300	0,216
	11	0,333	0,433	0,450	0,350	0,266	0,233
	11.3	0,033	0,066	0,016	0,016	0,033	0,050
	12	-	-	0,100	0,050	0,050	0,016
	12.3	-	0,016	-	-	-	-
	13	0,100	-	0,016	-	0,016	0,050
	14	0,266	0,183	0,250	0,300	0,316	0,416
	15	0,016	0,083	0,016	0,016	0,016	0,016
	p	0,224	0,154	0,242	0,484	0,096	0,269
	Ho	0,666	0,800	0,866	0,633	0,833	0,566
	He	0,756	0,732	0,713	0,725	0,746	0,731
DIS1677	10	-	0,050	0,033	-	0,016	0,016
	11	0,033	0,050	0,016	-	-	0,100
	12	0,100	0,100	0,066	0,100	0,150	0,116
	13	0,250	0,266	0,200	0,233	0,300	0,200
	14	0,283	0,250	0,366	0,316	0,283	0,333
	15	0,266	0,216	0,166	0,316	0,216	0,200
	16	0,066	0,050	0,100	-	0,033	0,016
	17	-	0,016	0,050	0,033	-	0,033
	p	0,596	0,039*	0,064	0,770	0,749	0,004*
	Ho	0,766	0,766	0,833	0,766	0,800	0,666
	He	0,783	0,815	0,792	0,746	0,771	0,797

(*)= valores de $p < 0,05$; **Ho**: heterozigidade observada; **He**: heterozigidade esperada.

Não se verificaram desvios significativos ao equilíbrio de Hardy-Weinberg. Para o marcador *D4S2364*, o valor de *p* encontrado foi 0,413, 0,474, 0,045, 0,486, 1, e 0,548 para as seis mesorregiões, na ordem de CSC, OSC, PSC, VSC, NSC e SSC. O marcador *D2S441* apresentou 0,224, 0,154, 0,242, 0,484, 0,096 e 0,269 como valor de *p*. E por último, o marcador *DIS1677* apresentou como valor de *p*: 0,596, 0,039, 0,064, 0,0770, 0,749 e 0,004.

Embora não exista nenhuma população que satisfaça os critérios postulados pelo teorema de Hardy-Weinberg (BUTLER, 2005), para a população de Santa Catarina os loci *D4S2364* e *D2S441* apresentaram valores de *p* acima de 0,05, indicando que esta encontra-se no equilíbrio postulado. Os valores de *p* para o locus *DIS1677* nas regiões CSC, PSC, VSC e NSC também foram maiores que 0,05. Porém, nas mesorregiões OSC e SSC, os valores encontrados foram de 0,039 e 0,004 respectivamente. Esses dados podem ser utilizados para análise, porém devem desprender uma maior cautela pelo fato de poderem ter ocorrido ao acaso.

Para o locus *D4S2364* o alelo *D4S2364*9* foi o mais frequente em todas as mesorregiões (assim como na população total de Santa Catarina, tabela 4), com frequências alélicas variando de 0,016 a 0,600. Comparando com outros estudos populacionais (Apêndice 2), percebe-se que o alelo *D4S2364*9* também foi o mais frequente no Paraná – BR (0,582) (MALAGHINI *et al.*, 2009) e nos estudos envolvendo Mulatos do Rio de Janeiro - Brasil (0,627) (ARANDA *et al.*, 2011), indicando uma forte semelhança genética entre brasileiros, com relação a este marcador.

Além disso, na Argentina (0,535) (VULLO *et al.*, 2010), no norte da Alemanha (0,519) (HERZOG *et al.*, 2007), em algumas regiões da Itália, como Umbria (0,536) e Sardenha (0,551) (MASSETTI *et al.*, 2009), na Turquia (0,473) (SIPAHİ *et al.*, 2011) e na Coreia (0,445) (CHUNG *et al.*, 2007) este mesmo alelo foi o mais frequente. Vale ressaltar que este alelo ser o mais frequente na Alemanha e na Itália pode representar uma explicação plausível para a sua distribuição em Santa Catarina, uma vez que dados históricos reforçam a forte colonização que o Estado de Santa Catarina passou por conterrâneos desses países.

As Regiões CSC, OSC e VSC apresentaram a mesma frequência para o alelo *D4S2364*9* (0,583). O alelo *D4S2364*11* foi apresentado apenas pelo OSC, com frequência de 0,016. Tal diferença pode ser ocasionada por uma variação na distribuição alélica regionalmente, mas

é preciso levar em consideração o pequeno tamanho amostral de apenas 30 indivíduos.

O alelo *D4S2364*10* foi o mais freqüente em estudos na Espanha (MARTIN *et al.*, 2007), com 0,572 de frequência. Esse resultado não era esperado uma vez que o Estado de Santa Catarina teve uma colonização espanhola consideravelmente grande, principalmente na região da CSC. Juntamente com a Espanha, os Estados Unidos (COBLE, 2005) e o Japão (ASAMURA *et al.*, 2005) também apresentaram o alelo *D4S2364*10* sendo o mais frequente, com 0,55 e 0,479 respectivamente.

Analisando o *locus D2S441*, verifica-se que o alelo *D2S441*11* foi o mais freqüente para a maioria das mesorregiões (CSC - 0,333; OSC - 0,433; PSC - 0,450 e VSC 0,350) da mesma maneira que na população total de Santa Catarina, do Paraná (0,336601), dos Mulatos do Rio de Janeiro - Brasil (0,319), da Coréia (0,375), do Japão (0,363), da Alemanha (0,36) (SEIDER *et al.*, 2010), dos americanos caucasianos (0,3529) e africanos (0,3567), da Hungria (0,3150) (MOLNAR *et al.*, 2010), do norte da Itália (0,3287) (CORTELLINI *et al.*, 2011) e de Veneza (0,3291) (TURRINA *et al.*, 2008). Novamente, os estudos nacionais corroboram os mesmos resultados, mostrando uma homogeneidade entre os indivíduos brasileiros. Algumas regiões da Itália se assemelham com os resultados obtidos pelo Estado catarinense, indicando relação genética e histórica entre a marcante colonização italiana.

Por outro lado, nas regiões NSC e SSC de Santa Catarina, o mais freqüente foi o alelo *D2S441*14*, com frequências de 0,316 e 0,416, respectivamente. As regiões de Umbria e Sardenha na Itália apresentaram também o alelo *D2S441*14* como o mais frequente (0,321 e 0,313 respectivamente), ressaltando que a similaridade genética entre NSC e SSC com populações italianas é embasada pela identidade histórica de colonização destas regiões do Estado. Estudos na Espanha e na Polônia (PARYS-PROSZEK *et al.*, 2010) também apresentaram como mais frequente o alelo *D2S441*14* (0,3049 e 0,328, respectivamente), dado que realça as informações obtidas através do IBGE sobre a colonização espanhola e polonesa no Estado Catarinense. As demais frequências para esse *locus* variaram de 0,016 a 0,450.

Novamente, a região OSC foi a única a apresentar um alelo diferente, o *D2S441*12.3*, com frequência de 0,016. Esse alelo também foi verificado nas populações dos Estados Unidos, Argentina, Espanha, Hungria e Itália (Veneza). Para o alelo *D2S441*12*, CSC e OSC não

apresentaram frequências e para o alelo *D2S441*13*, OSC e VSC não apresentaram frequências. Para o alelo *D2S441*11.3*, CSC e NSC apresentaram a mesma frequência, 0,033, bem como PSC e VSC (0,016). Esse fato entre CSC e NSC pode ser atribuído à colonização por Poloneses que essas regiões vivenciaram. Entre PSC e VSC, essa aproximação das frequências pode ocorrer devido à aproximação demográfica, podendo ter aumentado as chances de cruzamento entre essas duas regiões.

Quanto ao *locus DIS1677*, observa-se uma grande diversidade alélica, variando bastante entre os mais frequentes. Para a CSC, PSC e SSC, o alelo *DIS1677*14* foi o mais frequente, com 0,283, 0,366 e 0,333 respectivamente. O mesmo ocorreu para o Paraná (0,333) e os Mulatos brasileiros do Rio de Janeiro (0,348), sendo o alelo *DIS1677*14* o mais frequente, assim como para a Coréia (0,467), Argentina (0,3280), Africanos da América do Norte (0,3201), e norte da Alemanha (0,346). Destes países citados, o único que tem histórico de relação direta com a formação da população catarinense é a Alemanha, embora Santa Catarina tenha um histórico de formação populacional ao da Argentina (Marrero *et al*, 2005).

Na Região VSC, o alelo *DIS1677*15* apresentou a mesma frequência do alelo *DIS1677*14* (0,316), sendo ambos os alelos com maiores frequências. Nenhum outro estudo populacional comparado apresentou o alelo *DIS1677*15* como o mais frequente. OSC e NSC apresentaram o alelo *DIS1677*13* como o mais frequente, com respectivamente 0,266 e 0,300 de frequência. Alguns alelos não foram descritos em todas as mesoregiões, fato ocorrido no *locus D2S441*. O alelo *D2S441*10* não foi descrito para CSC e VSC e; VSC e NSC e não apresentaram o alelo *D2S441*11*; VSC não apresentou o alelo *D2S441*16*; e CSC e NSC não apresentaram o alelo *D2S441*17*. Pode-se observar que OSC, PSC e SSC foram as regiões com maior diversidade alélica, apresentando os 8 alelos encontrados para o *locus DIS1677*.

Em relação à Heterozigosidade observada, o resultado obtido pelas mesoregiões foi muito similar ao obtido pela população total de Santa Catarina. O *locus DIS1677* o que apresentou a maior heterozigosidade em todas as mesoregiões, variando de Ho: 0,800 no NSC a Ho: 0,666 no SSC. Os resultados obtidos para o *locus D2S441* foram muito próximos ao primeiro *locus* citado, variando de Ho: 0,866 no PSC a Ho: 0,566 no SSC. O *locus D4S2364* apresentou a menor heterozigosidade, variando de Ho: 0,733 no SSC a Ho: 0,466 no PSC e VSC.

Os valores obtidos para o parâmetro F_{ST} (coeficiente de diferenciação genética entre subpopulações) na população em estudo estão amostrados na tabela 6.

Tabela 6. Valores de F_{ST} para as mesorregiões do Estado de Santa Catarina.

	Capital	Oeste	Planalto	Vale	Norte	Sul
Capital	-					
Oeste	0,006	-				
Planalto	0,010	0,001	-			
Vale	0,005	0,008	0,011	-		
Norte	0,004	0,001	0,011	0,009	-	
Sul	0,002	0,016	0,001	0,016	0,018	-

Os resultados obtidos indicam pouca ou nenhuma diferenciação genética, uma vez que os valores encontrados de F_{ST} são muito baixos (0,001 a 0,018). As regiões SSC e NSC apresentam as populações geneticamente mais diferentes dentro da comparação com as mesorregiões do Estado de Santa Catarina, obtendo o valor mais alto de F_{ST} (0,018). Esses dados podem ser explicados pela diferença de contribuição ancestral na formação dessas populações (PIAZZA & HUBENER, 2003; SANTOS, 2004), sendo o SSC colonizado fortemente por italianos e o NSC, por franceses e poloneses, principalmente. O SSC também mostrou diferenças genéticas entre o OSC e o VSC, com respectivamente F_{ST} 0,016 e 0,016.

As regiões de PSC e VSC também apontaram alguma diferença genética, com valor de F_{ST} 0,011. NSC e PSC apontaram F_{ST} de 0,011. A CSC é geneticamente mais diferente do PSC. A comparação entre as regiões OSC/PSC e CSC/SSC apresenta valores de F_{ST} muito baixos (ambos 0,001).

O índice obtido pela Análise Molecular da Variância (AMOVA), uma medida das distâncias entre alelos, mostrou um F_{ST} 0,006, indicando que não houve diferenciação populacional significativa.

Analisando os resultados obtidos, pode-se estimar que não houve tempo evolutivo suficiente para que as mesorregiões do Estado de Santa Catarina se tornem geneticamente diferentes. Todas as alterações

genéticas estão atreladas ao tempo para se fixarem nas populações: leva um certo tempo para que os *locus* sofram mutações suficientes para fiquem polimórficos. Como a formação do Estado catarinense ocorreu aproximadamente no mesmo espaço de tempo, essa diferenciação ainda não ficou evidente.

Segundo Souza e colaboradores (2005), os casamentos na população humana nunca são totalmente ao acaso, pelo fato de terem questões culturais, demográficas e sócio-econômicas envolvidas. No entanto, esses miniSTRs forenses não apresentaram genótipos que tenham algum impacto no fenótipo do indivíduo, então certamente não interferem na seleção sexual (MORETI, 2009).

4.3 UTILIZAÇÃO DE MARCADORES MINISTRs EM AMOSTRAS DEGRADADAS

Foram testadas algumas amostras degradadas (2011165) e (201139) para a amplificação com miniSTRs e os perfis genéticos foram obtidos. Essas amostras haviam sido previamente testadas para os STRs convencionais, porém não havia sido obtido perfil. Com a utilização de *primers* miniSTRs foi possível obter o perfil desses indivíduos corroborando com a hipótese da utilização desses marcadores em análises forenses, uma vez que os *primers* se anelam em uma região mais próxima da região de repetição STR (Figura 8). Esse resultado corrobora para a utilização desses marcadores em amostras degradadas, amplamente descrita na literatura (BOROSKY *et al.*, 2009; COBLE *et al.*, 2005; FAGUNDES, 2010; MORETI, 2001; PACHECO, 2010; SENGE *et al.*, 2011).



Figura 8. Representação Ilustrativa da diferença da posição dos primers em relação ao início da sequência repetitiva no caso de STRs e miniSTRs. Fonte: Pacheco, 2010.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A identificação pelo DNA tem sido uma ferramenta de uso crescente importante na solução de casos forenses e sua crescente utilização é acompanhada pela necessidade da introdução de métodos cada vez mais rápidos e eficientes para determinação dos perfis genéticos. Um dos maiores problemas para a detecção do perfil de DNA é o fato de que, na maioria das vezes, as amostras coletadas para análise encontram-se em pequena quantidade e/ou em estado de deterioração. Nestes casos a qualidade do DNA extraído é baixa devido ao elevado grau de fragmentação destas moléculas. Assim, a utilização de produtos de PCR que amplificam fragmentos reduzidos, como no caso dos miniSTRs é uma maneira eficiente de recuperar informações genéticas destas amostras degradadas.

Para que os miniSTRs possam ser utilizados na rotina de identificação forense, é necessário o levantamento das frequências dos alelos na população de origem das amostras. Neste estudo foram determinadas as frequências alélicas de três miniSTRs em uma amostra da população do Estado de Santa Catarina e em suas mesorregiões, comparando estes resultados com aqueles previamente publicados por outros autores. Foram calculados alguns parâmetros populacionais necessários ao conhecimento das características genéticas da população do Estado de Santa Catarina, bem como realizados alguns testes de amplificação em amostras degradadas, obtendo resultados satisfatórios e atendendo positivamente aos interesses do Convênio de Cooperação entre o Laboratório de Polimorfismos Genéticos (LAPOGE-UFSC) e o Laboratório de Genética Forense do Instituto Geral de Perícias de Santa Catarina (IGP-SC) no desenvolvimento de conhecimento e avanço das linhas de investigação da Genética Forense.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, S. M.; ALBUQUERQUE, T. C. K.; BITTENCOURT, E. A. A.; OLIVEIRA, J. P. S. C. de; FAGUNDES, P. R.; JACQUES, G. S.; KOSHIKENE, D.; LIMA, H. B.; MALAGHINI, M.; MOREIRA, A. P. D. M.; SILVA, J. S. F. P.; WELTER, A. C. Rede Integrada de Bancos de Perfis Genéticos e a implantação do CODIS no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA FORENSE, 3., 2011, Porto Alegre. **Resumos...** Porto Alegre: SBG, 2011. CD Room.

ANDERSON, S.; BANKIER, A. T.; BARREL, B. G.; BRUIJN, M. H. L.; COULSON, A. R.; DROUIN, J.; EPERON, I. C.; NIERLICH, D. P.; ROE, B. A.; SANGER, F.; SCHREIER, P. H.; SMITH, A. J. H.; STADEN, R.; YOUNG, I. G. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. **Nature**, n. 290, p. 457-465, 1981.

ARANDA, X. G.; LAGE, C. A. C.; PLANZ, J. V.; EISENBERG, A. J.; MOURA-NETO, R. S.; SILVA, R. Genetic composition of six miniSTR in a Brazilian Mulatto sample population. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, v. 18, n. 4, p. 184-186, 2011.

ASAMURA, H.; UCHIDA, R.; TAKAYANAGI, K.; OTA, M.; FUKUSHIMA, H. Allele frequencies of the six miniSTR *loci* in a population from Japan. **International Journal of Legal Medicine**, n. 120, p. 182-184, 2005.

BAR, W.; KRATZER, A.; MACHLER, M.; SCHMID, W. Postmortem stability of DNA. **Forensic Science International**, v. 39, n. 1, p. 59-70, 1988.

BATTILANA, J. **Variabilidade genética em populações ameríndias e asiáticas: Região 16p13.3 e Inserções ALU. 2009.** 142 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2005.

BOROSKY, A.; ASTRADA, J.; ROMERO, M.; ROMANINI, C.; CATELLI, L.; VULLO, C. Use of *non-CODIS* miniSTR markers: Creation of a database in Argentina. **Forensic Science International - Genetics Supplement**, v. 2, p. 380-381, 2009.

BRASIL. **Extrato de Contrato nº 68/2011**, de 19 de agosto de 2011. Estabelece a compra do CODIS para a implementação desse sistema no Brasil. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, n. 160, p. 89, 19 ago. 2011. Seção 3, ptl.

BUTLER, J. M.; BECKER, C. H. Improved analysis of DNA short tandem repeats with time-of-flight mass spectrometry. **Science and Technology Research Report, National Institute of Justice**, p. 35-74, 2001.

BUTLER, J. M.; SHEN, Y.; MCCORD, B. R. The development of reduced size STR amplicons as tools for analysis of degraded DNA. **Journal Forensic Science**, v. 48, n. 5, p. 1054-1064, 2003.

BUTLER, J. M. **Forensic DNA Typing - Biology & Technology Behind STR Markers**. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 2005. 660 p.

BUTLER, J. M. Genetics and genomics of core short tandem repeat *loci* used in human identity testing. **Journal Forensic Science**, v. 51, n. 2, p. 253-265, 2006.

BUTLER, J. M. Mini-Review - Shot tandem repeat typing technologies used in human identity testing. **BioTechniques**, v. 43, n. 4, p. Sii- Sv, 2007.

CARVALHO-SILVA, D.; SANTOS, F. R.; ROCHA, J.; PENA, S. D. J. The phylogeography of Brazilian Y chromosome lineages. **American Journal of Human Genetics**. n. 68, p. 281-286, 2001.

CAVALLI-SFORZA, L. L.; MENOZZI, P.; PIAZZA, A. **The history and geography of human genes**. Princeton: New Jersey, 1994. 342 p.

COBLE, M. D.; BUTLER, J. M. Characterization of new miniSTR *loci* to aid analysis of degraded DNA. **Journal Forensic Science**, v. 50, n. 1, p. 43-53, 2005.

CHUNG, U.; SHIN, K. J.; PARK, M. J.; KIM, N. Y.; YANG, W. I.; CHO, S. H.; LEE, H. Y. Population data of nine miniSTR *loci* in Koreans. **Forensic Science International**, n. 168, p. 51-53, 2007.

CORTELLINI, V.; CERRI, N.; VERZELETTI, A. Population data on 5 non-CODIS STR *loci* (*D10S1248*, *D22S1045*, *D2S441*, *D1S1656*, *D12S391*) in a population sample from Brescia county (Northern Italy). **Forensic Science International: Genetics**, n. 5, p. 97-98, 2011.

DERENGOSKI, P. R. **A Saga dos Guarani: Guerreiros, Gaúchos e Gaudérios**. Florianópolis: Editora Insular, 2002. 61 p.

DOLINSKY, L. C.; PEREIRA, L. M. C. V. DNA Forense. **Saúde e Ambiente**, v. 2, n. 2, p. 11-22, 2007.

ELLEGREN, H. Microsatellites: simple sequence with complex evolution. **Nature reviews - Genetics**, v. 5, p. 435-445, 2004.

ERLICH, H. A. **PCR technology: Principles and applications for DNA amplification**. New York: W. H. Freeman and Company, 1992. 246 p.

EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. E. L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, p. 564-567, 2010.

FAGUNDES, P. R. **Rede Integrada de Banco de Perfis Genéticos: A implantação do Codis no Brasil**. In: Congresso Brasileiro De Genética Forense e II Jornada Lationoamericana de Genética Forense, 3., 2010, Porto Alegre. Resumos... Porto Alegre: SBG, 2011. CD Room.

FBI - FEDERAL BUREAU OF INVESTIGATION. **PCR-Based typing protocols**. Washington: FBI Laboratory, 1996.

FRUMKIN, D.; WASSERSTROM, A.; DAVIDSON, A.; GRAFIT, A. Authentication of forensic DNA samples. **Forensic Science International: Genetics**, v. 4, n. 2, p. 95-103, 2009.

GENBANK. **National Center for Biotechnology Information**. Search/nucleotide/for/, 2010. Disponível em <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>>. Acesso em: 18 abril 2012.

GILL, P.; FEREDAY, L.; MORLING, N.; SCHNEIDER, P. M. The evolution of DNA databases - Recommendations for new European STR *loci*. **Forensic Science International**, v. 156, p. 242-244, 2006.

GOODWIN, W.; BALLARD, D.; SIMPSON, K.; THACKER, C.; SYNDERCOMBE COURT, D.; GOW, J. Case study: paternity testing - when 21 *loci* are not enough. **International Congress Series**, v. 1261, p. 460-462, 2004.

GRIFFITHS, A. J. F.; WESSLER, S. R.; LEWONTIN, R. C.; CARROLL, S. B. **Introdução à genética**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. 588 p.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Princípios de Genética de Populações**. 4ª edição. Porto Alegre: Editora ArtMed LTDA, 2010. 660p.

HERZOG, U.; AUGUSTIN, C.; PUSCHEL, K. Allele frequencies of six miniSTR markers in a population sample from Northern German and its application on forensic stain analysis. **Forensic Science International: Genetics**, v. 1, n. 1, p. 331-333, 2008.

HILL, C. R.; COBLE, M. D.; BUTLER, J. M. **Characterization of 26 New miniSTR Loci**. Nashville: **Promega Meeting**. 2006. Disponível em <www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/pub_pres/Promega2006_Hill.pdf>. Acesso em: 03 Junho 2011.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo demográfico 2010**. 2010. Disponível em <www.ibge.gov.br>. Acesso em: 07 maio 2011.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Divisão regional do Brasil em mesorregiões e microrregiões geográficas**. Rio de Janeiro: IBGE, 1990. 8 p.

IUPAC-IUB. Commission on Biochemical Nomenclature (CBN). **Abbreviations and Symbols for Nucleic Acids, Polynucleotides and their Constituents. Recommendations**. 1970. Arch. Biochem. Biophys. 145, 425-436 (1971); Biochem. J. 120, 449-454 (1970); Biochemistry 9, 4022-4027 (1970); Biochim. Biophys. Acta 247, 1-12 (1971); Eur. J. Biochem. 15, 203-208 (1970), corrected 25, 1 (1972); Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. (in German) 351, 1055-1063 (1970); J. Biol. Chem. 245, 5171-5176 (1970); Mol. Biol. (in Russian) 6, 167-174 (1972); Pure Appl. Chem. 40, 277-290 (1974); also pp. 116-121 in Biochemical nomenclature and related documents (1978), the Biochemical Society, London.

JACQUES, G. S.; MINERVINO, A. C. Aspectos éticos e legais dos Bancos de Dados de Perfis Genéticos. **Revista Perícia Federal**, v. 4, n. 26, p. 17-20, 2007.

JEFFREYS, A. J., WILSON, V.; THEIN, S. J. Individual-specific 'fingerprints' of human DNA. **Nature**, v. 316, p. 76-79, 1985.

JOBIM, M. R.; EWALD, G.; WILSON, M. J.; CHAMUM, B.; JOBIM, L. F. Novos testes de DNA na Investigação de paternidade com suposto pai falecido. **Revista dos Tribunais**, v. 874, p. 55-69, 2008.

KOHLRAUSCH, F. B. **Estudo da variabilidade de 15 Microsatélites em quatro populações indígenas sul-americanas**. 2003. 88 f. Dissertação (Mestrado. em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2003.

LIMA, H. B. DNA X Criminalidade. **Revista Perícia Federal**, v. 26, n. 4, p. 8-11, 2007.

MAGUEJO, J. "Junk" DNA as a genetic decoy. 2003. Disponível em <<http://arxiv.org/pdf/q-bio/0310036v1.pdf>>. Acesso em: 17 março 2012.

MALAGHINI, M.; SCHNEIDER, V.; LEITE, F. Genetic analysis of 9 *non-CODIS* miniSTR *loci* in the Brazilian population of Parana. **Forensic Science International: Genetics**, v. 2, n. 1, p. 359-360, 2009.

MARRERO, A. R.; LEITE, F. P. N.; CARVALHO, B. A.; PERES, L. M.; KOMMERS, T. C.; CRUZ, I. M.; SALZANO, F. M.; RUIZ-LINARES, A.; SILVA, W. A. Jr.; BORTOLINI, M. C. Heterogeneity of the genome ancestry of individuals classified as white in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **American Journal of Human Biology**, v. 17, n. 4, p. 496-506, 2005.

MARTÍN, P.; GARCÍA, O.; ALBARRÁN, C.; GARCÍA, P.; YURREBASO, I.; ALONSO, A. Allele frequencies of six miniSTR *loci* (*D10S1248*, *D14S1434*, *D22S1045*, *D4S2364*, *D2S441* and *DIS1677*) in a Spanish population. **Forensic Science International**, v. 169, n. 2-3, p. 252-254, 2007.

MASSETTI, S.; SEVERINI, S.; LANCIA, M.; COLETTI, A.; CARNEVALI, E.; BACCI, M.; FAA, A.; D'ALOJA, E. Allele frequencies of six miniSTR *loci* (*D10S1248*, *D14S1434*, *D22S1045*, *D4S2364*, *D2S441*, *DIS1677*) in two Italian populations **Forensic Science International: Genetics**, v. 2, n. 1, p. 367-368, 2009.

MICHELIN, K.; PACHECO, A. C.; BITTENCOURT, E. A.; LIMA, M. J. M.; ALBUQUERQUE, T. K. Banco de Dados de Perfis Genéticos no combate aos crimes sexuais. **Revista Perícia Federal**, v. 4, n. 26, p. 13-16, 2007.

MOLNÁR, A.; ZALÁN, A.; PAMJAV, H. Allele distribution of the new European Standard Set (ESS) *loci* in the Hungarian population. **Forensic Science International: Genetics**, v. 5, p. 555-556, 2011.

MORETI, T. **Identificação Humana: Uma proposta metodológica para obtenção de DNA de ossos e implementação de banco de dados de frequências alélicas de STRs autossômicos na população de Santa Catarina.** 2009. 142 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2009.

MORLING, N.; SCHNEIDER, P. M.; MAYR, W.; GUSMAO, L.; PRINZ, M. Authentication of forensic DNA samples. **Forensic Science International: Genetics**, v. 5, n. 3, p. 249-250, 2011.

MOSIMANN, J. C. **Catarinenses - Gênese e história.** Florianópolis: Editora Eletrônica, 2010. 616 p.

MUNIZ, Y. C. N. **Marcadores genéticos de ancestralidade em comunidades fundadas por açorianos na Ilha de Santa Catarina.** 2008. 123 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2008.

NEI, M. **Molecular Evolutionary Genetics.** New York: Columbia University Press, 1987. 512 p.

PACHECO, A. C. **Emprego de miniSTRs "non-CODIS" em amostras biológicas de DNA forense.** 2010. 83 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo. 2010.

PARADELA, E. R.; FIGUEIREDO, A. L. S.; SMARRA, A. L. S. A identificação humana por DNA: aplicações e limites. Rio Grande: *ÂmbitoJurídico.com.br*. IX, n. 30, jun 2006.

PARRA, F. C.; AMADO, R. C.; LAMBERTUCCI, J. R.; ROCHA, J.; ANTUNES, C. M.; PENA, S. D. J. Color and genomic ancestry in Brazilians. **PNA**, v. 100, p. 177-182, 2003.

PARYS-PROSZEK, A.; KUPIEC, T.; WOLANSKA-NOWAK, P.; BRANICKI, W. Genetic variation of 15 autosomal STR *loci* in a

population sample from Poland. **Legal Medicine**, n. 12, p. 246-248, 2010.

PENA, S. D. J. DNA como (única) testemunha em determinação de paternidade. **Bioética**, v. 5, p. 231-241, 1997.

PENA, S. D. J.; DI PIETRO, G.; FUCHSHUBER-MORAES, M.; GENRO, J. P.; HUTZ, M. H.; KEHDY, F. S. G.; KOHLRAUSCH, F.; MAGNO, L. A. V.; MONTENEGRO, R. C.; MORAES, M. O.; MORAES, M. E. A.; MORAES, M. R.; OJOPI, E. B.; PERINI, J. A.; RACCIOPI, C.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, A. K. C.; RIOS-SANTOS, F.; ROMANO-SILVA, M. A.; SORTICA, V. A.; SUAREZ-KURTZ, G. The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. **PLoS ONE**, v. 6, n. 2. 2011.

PIAZZA, W. F. **A colonização de Santa Catarina**. Florianópolis: Lunardelli, 1988. 376 p.

PIAZZA, W. F; HUBENER, L. M. **Santa Catarina História da Gente**. 6 ed. Florianópolis: Editora Lunardele, 2003. 261 p.

PIERCE, B. A. **Genética essencial : Conceitos e conexões**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. 674 p.

SAIKI, R. K.; GELFAND, D. H.; STOFFEL, S.; SCHARF, S. J.; HIGUCHI, R.; HORN, G. T.; MULLIS, K. B.; ERLICH, H. A. Polymerase chain reaction, de reação em cadeia da polimerase. primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. **Science**, v. 4839, n. 239, p. 487-491, 1988.

SALZANO, F. M.; BORTOLINI, M. C. **Evolution and genetics of latin american populations**. Cambridge: Cambridge University Press, 2002. 1.512p.

SANTOS, S. C. **Nova Historia de Santa Catarina**. 50 ed. Florianópolis: Editora UFSC, 2004. 118 p.

SCHMALZING, D.; KOUTNY, L.; ADOURIAN, A.; BELGRADER, P.; MATSUDAIRA, P.; EHRLICH D. DNA typing in thirty seconds with a microfabricated device. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 94, n. 19, p. 10273-10278, 1997.

SEIDER, T.; FIMMERS, R.; BETZ, P.; LENDERER, T. Allele frequencies of the five miniSTR *loci* *DIS1656*, *D2S441*, *D10S1248*, *D12S391* and *D22S1045* in a German population sample. **Forensic Science International: Genetics**, n. 4, p. 159-160, 2010.

SENGE, T.; MADEA, B.; JUNGE, A.; ROTHSCILD, M. A.; SCHNEIDER, P. M. STRS, miniSTRs and SNPs - a comparative study for typing degraded DNA. **Legal Medicine**, v. 13, p. 68-74, 2011.

SHAFFNER, S. F. The X Chromosome in population Genetics. **Nature Reviews- Genetics**, v. 5, p. 43-51, 2004.

SOUZA, I.R.; CULPI, L. Valongo, genetic studies on a isolated Afro-Brazilian Community. **Genetics and Molecular Biology**, v.28, n.3, p.402-406, 2005.

SIPAHI, H.; FILOGLU, G.; UNSAL, T.; ALTUNÇUL, H. Allele frequencies of Nc02 multiplex Str *loci* (*DIS1677*, *D2S441*, *D4S2364*) in Turkey. **Forensic Science International: Genetics Supplement Series**, n. 3, p. 538-539, 2011.

SOUZA, J. C. De; QUEIROZ, P. R. **Aplicações dos marcadores moleculares baseados em DNA nas questões de identificação humana no âmbito cível e forense**. 2010. Disponível em <<http://www.cpgls.ucg.br/ArquivosUpload/1/File/V%20MOSTRA%20DE%20PRODUO%20CIENTIFICA/SAUDE/60.pdf>>. Acesso em: 07 maio 2011.

STRACHAN, T; READ, A P. **Genética Molecular Humana**. 2ª edição. Porto Alegre: Editora Artmed LTDA, 2002. 576p.

TURRINA, S.; ATZEI, R.; LEO, D. De. Population study of three miniSTR *loci* in Veneto (Italy). **Forensic Science International: Genetics**, v. 1, n. 1, p. 378-397, 2008.

VULLO, C.; BOROSKY, A.; ROMANINI, C.; CATELLI, L.; YAMAMOTO, T. Frequency data for 12 mini STR *loci* in Argentina. **Forensic Science International: Genetics**, v. 4, n. 3, p. 79-81, 2010.

APÊNDICES

APÊNDICE 1: Planilhas dos Resultados

Capital Santa Catarina (CSC)				Oeste Santa Catarina (OSC)			
Identificação	D4S23	DS24	DIS16	Identificação	D4S23	DS24	DIS16
ão	64	41	77	ão	64	41	77
CSC0001	9;10	10;11	14;15	OSC0001	9;9	10;11	13;15
CSC0002	9;10	14;14	15;15	OSC0002	9;10	14;15	13;15
CSC0003	9;9	13;13	13;16	OSC0003	10;10	11;11	13;14
CSC0004	9;9	10;11	14;14	OSC0004	9;9	11;11.	13;14
CSC0005	9;10	3	14;15	OSC0005	9;10	3	14;15
CSC0006	9;9	10;15	13;15	OSC0006	9;10	11;14	13;16
CSC0007	9;9	14;14	11;14	OSC0007	9;10	11;11.	14;14
CSC0008	9;10	14;14	14;15	OSC0008	8;9	14;15	14;15
CSC0009	8;9	10;11	15;15	OSC0009	9;9	11;14	13;15
CSC0010	9;10	14;14	14;15	OSC0010	8;10	10;11	13;14
CSC0011	8;8	13;14	12;15	OSC0011	9;11	10;14	14;15
CSC0012	9;10	13;14	13;13	OSC0012	9;10	11;15	11;15
CSC0013	9;9	10;14	13;14	OSC0013	9;9	10;11	10;10
CSC0014	9;9	11;14	14;15	OSC0014	9;9	11;11	12;15
CSC0015	9;9	11;11	13;14	OSC0015	8;10	10;11	12;15
CSC0016	9;10	10;10	14;15	OSC0016	8;10	10;11	14;14
CSC0017	9;9	10;14	13;15	OSC0017	9;10	10;10	13;15
CSC0018	9;10	11;13	13;16	OSC0018	8;9	11;14	11;11
CSC0019	8;9	10;11	14;16	OSC0019	9;9	11;11	13;14
CSC0020	9;10	11;14	13;15	OSC0020	9;9	10;11	13;14
CSC0021	9;10	10;11	12;12	OSC0021	8;9	11;11.	14;14
CSC0022	8;10	11;11	12;13	OSC0022	8;9	3	12;15
CSC0023	9;9	10;14	14;14	OSC0023	9;9	12.3;1	13;13
CSC0024	8;10	11;11	13;13	OSC0024	9;9	5	10;12
CSC0025	9;10	11;11	15;16	OSC0025	9;9	10;11	12;13
CSC0026	10;10	10;14	13;14	OSC0026	8;8	11.3;1	13;16
CSC0027	9;10	10;11.	12;13	OSC0027	9;9	4	14;15
CSC0028	8;9	3	14;15	OSC0028	8;10	10;10	12;16
CSC0029	8;9	10;11	13;14	OSC0029	10;10	11;11	15;17
CSC0030	9;10	11;13	11;12	OSC0030	9;9	14;15	13;13

Planalto Santa Catarina (PSC)				Vale Santa Catarina (VSC)			
Identificaç ão	D4S23 64	DS24 41	DIS16 77	Identificaç ão	D4S23 64	DS24 41	DIS16 77
PSC0001	9;10	11;12	15;16	VSC0001	9;10	11;11	12;14
PSC0002	10;10	11;14	14;17	VSC0002	9;9	10;11	14;15
PSC0003	9;10	11;11	13;14	VSC0003	8;10	14;14	13;15
PSC0004	8;9	10;11	13;15	VSC0004	8;10	10;15	12;14
PSC0005	9;9	10;11	10;10	VSC0005	9;9	11;11	12;15
PSC0006	9;10	14;14	14;15	VSC0006	9;9	10;11	14;15
PSC0007	9;9	11;14	12;13	VSC0007	9;9	10;11	13;15
PSC0008	9;9	10;11	13;14	VSC0008	9;9	11;14	12;13
PSC0009	8;9	11;14	13;16	VSC0009	9;9	14;14	12;14
PSC0010	8;9	10;11	14;15	VSC0010	8;9	11;14	14;14
PSC0011	9;9	11;14	14;14	VSC0011	8;9	14;14	14;14
PSC0012	9;10	11;14	15;16	VSC0012	10;10	10;10	12;15
PSC0013	9;10	11;14	15;16	VSC0013	9;10	11.3;1	13;14
PSC0014	8;8	11;12	14;14	VSC0014	9;9	12;14	13;15
PSC0015	8;9	10;11	13;14	VSC0015	9;10	10;11	13;15
PSC0016	9;9	11;12	13;14	VSC0016	9;10	11;11	14;15
PSC0017	9;9	14;14	14;15	VSC0017	9;10	14;14	15;15
PSC0018	9;9	11;11	13;14	VSC0018	9;9	11;14	13;15
PSC0019	9;9	11;12	13;15	VSC0019	9;9	10;14	13;15
PSC0020	9;10	10;11	13;14	VSC0020	9;10	10;11	13;14
PSC0021	9;9	13;14	14;14	VSC0021	8;10	10;12	15;15
PSC0022	9;9	10;14	14;17	VSC0022	10;10	11;14	13;14
PSC0023	8;8	11;14	12;13	VSC0023	9;9	10;14	13;14
PSC0024	8;8	11;15	12;15	VSC0024	10;10	10;12	14;17
PSC0025	9;10	10;11	13;14	VSC0025	9;10	11;14	15;15
PSC0026	8;10	11;11.	11;14	VSC0026	10;10	11;11	14;17
PSC0027	8;8	3	11;14	VSC0027	10;10	11;11	14;17
PSC0028	8;8	11;14	14;14	VSC0027	8;9	10;14	13;15
PSC0029	8;9	11;14	16;17	VSC0028	9;9	11;11	13;13
PSC0030	8;8	10;12	12;14	VSC0029	9;10	10;10	14;14
PSC0030	9;10	11;12	15;16	VSC0030	9;9;	10;11	14;15

Norte Santa Catarina (NSC)				Sul Santa Catarina (SSC)			
Identificaç ão	D4S23 64	DS24 41	DIS16 77	Identificaç ão	D4S23 64	DS24 41	DIS16 77
NSC0001	9;9	12;12 11.3;1	12;12	SSC0001	9;10	11.3;1 4	11;11
NSC0002	8;8	4	13;14	SSC0002	9;9	14;14	13;15
NSC0003	9;9	10;14	14;15	SSC0003	9;10	10;13	12;13
NSC0004	8;9	10;14	15;15	SSC0004	9;9	14;14	13;14
NSC0005	9;9	10;11	12;14	SSC0005	9;10	10;12	11;11
NSC0006	8;9	11;14	13;13	SSC0006	8;9	14;14	12;14
NSC0007	8;8	10;10	12;13	SSC0007	8;10	10;10	13;16
NSC0008	8;9	10;11	13;15	SSC0008	8;9	14;14	14;14
NSC0009	9;10	10;14	14;15	SSC0009	9;10	14;14	14;14
NSC0010	8;9	10;14	13;13	SSC0010	9;10	11;14	14;15
NSC0011	9;9	11;14 11.3;1	14;16	SSC0011	8;10	10;14	14;15
NSC0012	8;9	4	13;15	SSC0012	9;9	10;10	14;15
NSC0013	8;10	14;14	13;15	SSC0013	9;10	11;14	14;14
NSC0014	8;9	11;11	13;14	SSC0014	9;9	11;11 11.3;1	12;15
NSC0015	8;9	10;14	12;16	SSC0015	9;10	4	12;13
NSC0016	9;9	10;11	13;14	SSC0016	8;10	10;11	14;14
NSC0017	8;9	11;14	10;15	SSC0017	9;10	10;14	15;17
NSC0018	8;9	11;14	12;13	SSC0018	8;9	10;14	13;15
NSC0019	9;10	10;11	12;13	SSC0019	9;10	14;14	13;15
NSC0020	9;9	10;14	13;14	SSC0020	9;10	10;15	11;14
NSC0021	9;9	11;14	14;14	SSC0021	10;10	10;11	14;15
NSC0022	8;8	11;15	14;15	SSC0022	10;10	11;14	13;15
NSC0023	9;9	10;11	12;13	SSC0023	9;9	13;14	12;12
NSC0024	9;9	11;14	13;14	SSC0024	8;9	13;14	13;13
NSC0025	9;9	10;12	12;15	SSC0025	8;9	11;11	13;15
NSC0026	8;10	10;14	14;14	SSC0026	9;10	14;14	13;15
NSC0027	8;9	10;14	14;15	SSC0027	8;9	11;11 10;11.	12;17
NSC0028	9;10	10;13	13;14	SSC0028	10;10	3	11;14
NSC0029	9;9	11;11	13;15	SSC0029	9;10	11;14	14;14
NSC0030	9;10	10;14	14;15	SSC0030	8;9	11;11	14;14

[illegible]

ANEXOS

ANEXO 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido aos Controles

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR, EMBRIOLOGIA E GENÉTICA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO AOS CONTROLES

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa referente ao projeto intitulado: **Estrutura Genética e Origem da População do Estado de Santa Catarina.**

Nós do grupo de pesquisa Genética Humana Aplicada, pertencente à Universidade Federal de Santa Catarina, estamos desenvolvendo um projeto de pesquisa para avaliação da estrutura populacional do estado de Santa Catarina, por meio da utilização de marcadores moleculares, localizados no DNA, e que identificam polimorfismo (variabilidade) entre indivíduos.

Para isto pedimos sua colaboração. Deixamos claro que sua participação é voluntária, não interferindo no procedimento realizado pelo HEMOSC quanto a ser candidato a doador de medula. Você é livre para retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento.

Caso você concorde em participar, você irá responder um questionário de duração aproximada de 5 minutos, para sabermos sobre a origem étnica de sua família. O procedimento de coleta biológica será por meio da retirada de sangue, o qual servirá para a obtenção de seu DNA.

A coleta de sangue é procedimento normal para o doador de medula. O aparecimento de mancha roxa ou dor no local da espetada da agulha podem ocorrer sem representar maiores preocupações.

As informações coletadas, bem como os resultados das análises genéticas serão mantidos em sigilo e serão utilizadas somente pela equipe da pesquisa.

A participação no projeto não acarretará custos e não será disponível nenhuma compensação financeira adicional, ou seja, você não precisará pagar e nem receberá nada para fazer parte deste estudo.

Os resultados deste estudo irão, no futuro, proporcionar informações sobre a composição étnica da população do estado de Santa Catarina, compondo um banco de dados que será útil como informação epidemiológica ao estado de SC.

A equipe agradece antecipadamente sua colaboração e se coloca à sua disposição para responder qualquer pergunta que você queira fazer, e esclarecer quaisquer dúvidas que porventura apareçam. Para isso você pode telefonar para o número **(48) 3721-9804** e conversar com a Dra. Ilíada Rainha de Souza, coordenadora do projeto ou com a doutoranda Sandra Regina Rachadel Torres, pesquisadora responsável pelo projeto.

Data____/____/____

Assinatura da Coordenadora:

Assinatura da Pesquisadora responsável:

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR,
EMBRIOLOGIA E GENÉTICA
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E
ESCLARECIDO AOS CONTROLES

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO

Eu, _____
_____, fui informada (o) dos objetivos da pesquisa **Estrutura Genética e Origem da População do Estado de Santa Catarina**, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas a respeito.

Concordo que meus dados sejam utilizados na realização da mesma e autorizo a guarda de meu material biológico para o caso de futuras pesquisas, sendo eu contatado para fornecer nova autorização caso forem realizadas novas pesquisas não mencionadas neste projeto.

Florianópolis,

Assinatura: _____

RG: _____

ANEXO 2 – Questionário aos pacientes**Universidade Federal de Santa Catarina****Centro de Ciências Biológicas****Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – BEG****Laboratório de Polimorfismos Genéticos****PROJETO: Estrutura Genética e Origem da População do Estado
de Santa Catarina**

IDENTIFICAÇÃO:

COLETA: SANGUE

DATA: ____/____/____

ENTREVISTADOR _____

DADOS PESSOAIS:

NOME: _____

ENDEREÇO: _____

CIDADE: _____

TELEFONE RESIDENCIAL: _____

TELEFONE TRABALHO: _____

CELULAR: _____

E-MAIL: _____

CONTATO: e-mail telefone celular correio

IDADE: _____ GÊNERO: Feminino Masculino

DATA DE NASCIMENTO: _____

ESTADO CIVIL: _____

PROFISSÃO: _____ APOSENTADO: S N

ESCOLARIDADE:

ANALFABETO

1º GRAU INCOMPLETO

1º GRAU COMPLETO

2º GRAU INCOMPLETO

2º GRAU COMPLETO

SUPERIOR INCOMPLETO

SUPERIOR COMPLETO

PÓS-GRADUAÇÃO

CIDADE/ESTADO ONDE NASCEU: _____

ASCENDÊNCIA:

MATERNA _____

PATERNA _____

AUTOIDENTIFICAÇÃO (IBGE)

BRANCO ÍNDIO PRETO PARDO AMARELO

COR DA PELE (anotado pelo entrevistador):

NEGRA

MULATA

AMARELA

BRANCA

PESO: _____

ALTURA: _____

TIPO DE SANGUE: _____

OBSERVAÇÃO: _____

DADOS FAMILIARES:

NOME DO PAI:_____

CIDADE/ESTADO ONDE NASCEU: _____

ASCENDÊNCIA DO PAI:

MATERNA_____PATERNA_____

PROFISSÃO:_____

NOME DA MÃE:_____

CIDADE/ESTADO ONDE NASCEU: _____

ASCENDÊNCIA DA MÃE:

MATERNA_____PATERNA_____


PROFISSÃO:_____

POSSUI IRMÃOS: S N QUANTOS: F____ M____

OBS:(se necessário anotar no verso)

ANEXO 3 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos

Planos de Saúde - Servidor

 MINISTÉRIO DA SAÚDE Conselho Nacional de Saúde Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP		FR - 374794	
FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS			
Projeto de Pesquisa Estrutura genética e origem da população do estado de Santa Catarina			
Área de Conhecimento 2.00 - Ciências Biológicas - 2.02 - Genética		Grupo Grupo II	Nível Fase
Área(s) Temática(s) Especial(is) Genética Humana,		Não se Aplica	
Intermédios Polimorfismos genéticos, DNA mitocondrial, marcadores de DNA, microssatélites, Santa Catarina			
Sujeitos na Pesquisa			
Nº de Sujeitos no Centro 800	Total Brasil 800	Nº de Sujeitos Total 800	Grupos Especiais
Placebo NÃO	Medicamentos NV/AIDS NÃO	Wash-out NÃO	Sem Tratamento Específico NÃO
			Banco de Materiais Biológicos SIM
Pesquisador Responsável			
Pesquisador Responsável Ilde Rainha de Souza		CPF 468.533.679-87	Identidade 37889354
Área de Especialização GENÉTICA HUMANA E MÉDICA		Maior Titulação Doutor	Nacionalidade Brasileira
Endereço Rua Cap. Euclides Castro, 265, ap. 407		Bairro Coqueiros	Cidade Florianópolis - SC
Código Postal 88080-010	Telefone 0XX48-3721-9804 / 0XX48-3244-5546	Fax	E-mail rainha@ccb.ufsc.br
Termo de Compromisso Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima.			
Data: <u>27.1.2010</u>		Assinatura <i>Ilde Rainha de Souza</i>	
Instituição Onde Será Realizado			
Nome Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC		CNPJ 63.896.526/0001-82	Nacional/Internacional Nacional
Unidade/Órgão BEQCCB		Participação Estrangeira NÃO	Projeto Multicêntrico NÃO
Endereço Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima		Bairro Trindade	Cidade Florianópolis - SC
Código Postal 88040-900	Telefone 48 3318206	Fax 48 3319599	E-mail cep@reitoria.ufsc.br
Termo de Compromisso Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução.			
Nome: <i>Luciana M. Perazzo</i>		Assinatura <i>Dr. Rodolfo J. Ramos</i> Gerente Técnico - HEMOSC	
Data: <u>28.1.2010</u>			
Vinculada			
Nome Fundação de Apoio ao Hemoc/Conen		CNPJ 66.897.113/0001-57	Nacional/Internacional Nacional
Unidade/Órgão Laboratório de Imunogenética		Participação Estrangeira NÃO	Projeto Multicêntrico NÃO
Endereço Rua Presidente Coutinho 160		Bairro Centro	Cidade Florianópolis - SC
Código Postal 88015-230	Telefone (48) 3212-1300	Fax (48) 3212-1300	E-mail fahcece@fahcece.org.br
Termo de Compromisso Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares.			
Nome: <i>Rodolfo J. Ramos</i>		Assinatura <i>Dr. Rodolfo J. Ramos</i> Gerente Técnico - HEMOSC	
Data: <u>26.10.10</u>			

O Projeto deverá ser entregue no CEP em até 30 dias a partir de 27/09/2010. Não ocorrendo a entrega nesse prazo esta Folha de Rosto será INVALIDADA.

[Voltar](#)
[IMPRIMIR](#)